

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
CARRERA DE INGENIERIA QUÍMICA

MODELACIÓN CINÉTICA DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DEL ZUMO DE
POMARROSA

TESIS DE GRADO PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA QUIMICA

AUTOR: YADIRA ELIZABETH MORA DUTÁN

QUITO

2014

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
CARRERA DE INGENIERIA QUÍMICA

MODELACIÓN CINÉTICA DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DEL ZUMO DE
POMARROSA

TESIS DE GRADO PARA LA OBTENCIÓN DEL TITULO DE INGENIERA QUIMICA

AUTOR: YADIRA ELIZABETH MORA DUTÁN
TUTOR: ING. ANDRES FERNANDO DE LA ROSA MARTÍNEZ

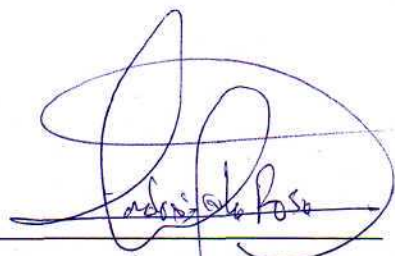
QUITO

2014

APROBACIÓN DEL TUTOR

En calidad de tutor, luego del estudio y el análisis realizado sobre la tesis de grado presentada por la Señorita YADIRA ELIZABETH MORA DUTÁN que titula MODELACIÓN CINÉTICA DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DEL ZUMO DE POMARROSA, sobre el particular informo la tesis de grado tiene valor académico y utiliza conocimientos de la Ingeniería Química que han resuelto el problema y los objetivos planteados, por lo que declaro mi conformidad con el mismo.

En la ciudad de Quito, a los 28 días del mes de noviembre del 2013.



Ing. ANDRÉS DE LA ROSA MARTÍNEZ

Profesor Tutor

AUTORIZACIÓN DE LA AUTORÍA INTELECTUAL

Yo, YADIRA ELIZABETH MORA DUTÁN en calidad de autor de la tesis realizada sobre MODELACIÓN CINÉTICA DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DEL ZUMO DE POMARROSA, por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o de parte de los que contiene esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autor me corresponden, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8, 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Quito, a los 28 días del mes de noviembre del 2013



Yadira Mora D.

GRADUANDO

C. C. 0401446059

yadiliz12@hotmail.com

DEDICATORIA

A la constante lucha de mis padres,
especialmente a mi madre, pilar fundamental en mi vida,
ejemplo de superación, fortaleza y tenacidad.
A mis hermanos, Diego, Eli y Carla por su apoyo incondicional
en la culminación de esta gran meta.
A mi ñaña Isita por enseñarme a ver la vida de otra manera.
A mi abuelita Isabel por sus sabios y acertados consejos.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por ser una guía indispensable en mi camino y permitirme culminar una meta más.

A la Universidad Central del Ecuador por todos los conocimientos adquiridos en esta gran casona del saber.

A la Facultad de Ingeniería Química por la formación académica permanente que brinda, formando profesionales de gran valía.

Al Ing. Andrés De La Rosa, coautor de este trabajo, por su acertada tutoría y dirección.

A Diego Chulde por la colaboración y las facilidades proporcionadas en el laboratorio de Investigación en Biotecnología.

A mi abuelito Pepe y mi tía Charito, sin su ayuda no hubiese sido posible la culminación de este trabajo.

A Jonna por su apoyo y amor incondicional, un gran ejemplo de lucha y perseverancia.

A todos mis amigos y familiares que siempre estuvieron prestos para brindarme todo su apoyo incondicional, y ayudarme a que uno de mis sueños se haga realidad.

CONTENIDO

	Pág.
LISTA DE TABLAS.....	xii
LISTA DE CUADROS.....	xiv
LISTA DE FIGURAS.....	xv
LISTA DE GRÁFICOS.....	xvi
RESUMEN.....	xviii
ABSTRACT.....	xix
1 PROCESO FERMENTATIVO.....	3
1.1 Fermentación.....	3
1.1.1 Clasificación.....	3
1.1.1.1 Fermentaciones promovidas por microorganismos y por enzimas.....	3
1.1.1.2 Fermentación alcohólica.....	4
1.1.1.3 Fermentación discontinua.....	5
1.1.1.4 Fermentación continua	5
1.1.2 Factores que influyen en el proceso fermentativo.....	5
1.1.2.1 Concentración de Sustrato	5
1.1.2.2 pH.....	6
1.1.2.3 Temperatura.....	6
1.1.2.4 Nutrientes.	6
1.1.2.5 Concentración de etanol.	6
1.1.2.6 Contacto con el aire.	6
1.1.2.7 Selección del microorganismo fermentador.....	6
1.2 Levaduras	7
1.2.1 Clasificación de las levaduras.	7
1.2.2 Composición química de las levaduras.....	9
1.2.3 Requerimientos nutricionales.....	9
1.2.4 Clasificación taxonómica de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	9
1.3 Cinética de crecimiento.....	10
1.3.1 Crecimiento en un cultivo discontinuo	10

1.3.2 Efecto de la concentración de sustrato.	12
1.3.3 Efecto del pH en el crecimiento microbiano.	13
1.3.4 Efecto de la temperatura en el crecimiento microbiano	14
1.3.5 Cinética de orden cero.	15
1.3.6 Cinética de primer orden	15
1.3.7 Cinética de Michaelis Menten.	16
1.3.8 Cinética autocatalítica	17
1.3.9 Consumo de sustrato con formación de producto.	18
1.4 Parámetros cinéticos celulares en un reactor discontinuo	19
1.4.1 Velocidad de reacción	19
1.4.1.1 Velocidad volumétrica.	20
1.4.1.2 Velocidad específica.	20
1.4.2 μ_{max} y K_s	20
1.5 Rendimientos en un cultivo celular	21
 2 POMARROSA	 22
2.1 Descripción	22
2.2 Partes del fruto de la pomarroza	24
2.3 Origen y distribución.	24
2.4 Taxonomía.	25
2.5 Valores nutricionales.	26
2.6 Usos de la pomarroza	27
2.6.1 Hojas.	27
2.6.2 Pulpa.	27
2.6.3 Fruto.	27
2.6.4 Madera	28
2.6.5 Corteza.	28
2.6.6 Raíces y semillas	28
2.6.7 Flores.	29
2.6.8 Árbol.	29
2.7 La pomarroza en el Ecuador.	29
2.7.1 Antecedentes.	29
2.7.2 Zonas cultivadas.	30
2.7.3 Rendimientos del fruto de pomarroza.	32

3 METODOLOGÍA	33
3.1 Diseño experimental.....	33
3.2 Descripción del proceso experimental	34
3.3 Materiales y equipos:	34
3.4 Sustancias y reactivos.....	36
3.4.1 <i>Fermentación</i>	36
3.4.2 <i>Determinación de azúcares reductores</i>	36
3.4.3 <i>Determinación de etanol</i>	36
3.5 Procedimiento	36
3.5.1 <i>Fermentación alcohólica</i>	36
3.5.2 <i>Determinación de etanol</i>	37
3.5.3 <i>Determinación de azúcares reductores</i>	38
3.5.4 <i>Determinación del crecimiento microbiano</i>	38
3.5.5 <i>Evaluación del grado de aceptabilidad</i>	38
3.6 Diagrama de flujo del proceso experimental.....	39
4 DATOS EXPERIMENTALES	40
4.1 Datos del monitoreo de formación de etanol mediante HPLC.....	40
4.1.1 <i>Datos obtenidos de los reactores contruidos manualmente para cada caso</i>	40
4.1.2 <i>Datos del etanol obtenido del experimento realizado en el biorreactor.</i>	44
4.2 Datos del monitoreo de azúcares reductores	45
4.2.1 <i>Datos de azúcares reductores obtenidos de los reactores contruidos manualmente.</i>	45
4.2.2 <i>Datos del monitoreo de azúcares reductores para la mejor condición realizada en</i> <i>el biorreactor</i>	48
4.3 Datos del crecimiento microbiano en función del tiempo.....	49
4.3.1 <i>Datos del crecimiento microbiano determinados de los reactores contruidos</i> <i>manualmente para cada caso</i>	49
4.3.2 <i>Datos del crecimiento microbiano tomados del experimento realizado en el</i> <i>biorreactor</i>	52
4.4 Datos de las pruebas de catación.....	53
5 CÁLCULOS Y RESULTADOS	55
5.1 Cálculos previos a la experimentación.....	55
5.1.1 <i>Cálculo de la densidad inicial del zumo de la pomarrosa por el método del</i> <i>picnómetro</i>	55

5.1.2	<i>Corrección de los grados brix del mosto por evaporación.....</i>	55
5.1.2.1	<i>Cálculo de la densidad final del zumo</i>	55
5.1.2.2	<i>Cálculo de la masa del concentrado</i>	56
5.1.2.3	<i>Balance de masa para determinar el volumen inicial necesario para evaporar y..... concentrar el zumo a 20°Brix.....</i>	56
5.1.2.4	<i>Cálculo de la cantidad de levadura necesaria para preparar el mosto.....</i>	58
5.1.2.5	<i>Cálculo de la cantidad de fosfato de amonio necesaria para la fermentación</i>	58
5.2	<i>Cálculo del porcentaje de azúcares reductores presentes en el zumo.</i>	58
5.2.1	<i>Cálculo de concentración de azúcares reductores antes de la evaporación</i>	58
5.2.2	<i>Porcentaje de azúcares reductores del zumo concentrado.</i>	58
5.3	<i>Ajuste del modelo cinético que caracteriza el proceso de la fermentación alcohólica del zum de pomarrosa</i>	60
5.3.1	<i>Cálculo de la velocidad de reacción a partir del diagrama concentración del..... sustrato en función del tiempo $CS = f(t)$.</i>	60
5.3.2	<i>Modelo cinético de Michaelis Menten.....</i>	61
5.3.2.1	<i>Cálculo de la concentración de sustrato que predice el modelo cinético a partir..... de la ecuación de Michaelis Menten</i>	63
5.3.3	<i>Modelo cinético de primer orden</i>	63
5.3.3.1	<i>Cálculo de la concentración de sustrato que predice el modelo cinético a partir del modelo de primer orden.</i>	64
5.3.3.2	<i>Cálculo de la velocidad de reacción teórica</i>	64
5.3.4	<i>Modelo cinético autocatalítico.....</i>	65
5.3.4.1	<i>Cálculo de la concentración de sustrato que predice el modelo cinético a partir..... del modelo autocatalítico</i>	66
5.3.5	<i>Cinética de Monod para la proliferación de biomasa.</i>	67
5.3.5.1	<i>Cálculo de la velocidad de crecimiento bacteriano.....</i>	67
5.3.5.2	<i>Ecuación del modelo cinético de Monod.</i>	69
5.3.5.3	<i>Cálculo de la concentración de sustrato que predice el modelo cinético a partir..... de la ecuación de Monod</i>	70
5.4	<i>Cálculo de la tasa del rendimiento del producto obtenido (YP/S)</i>	70
5.4.1	<i>Cálculo del rendimiento teórico.....</i>	70
5.4.2	<i>Cálculo del rendimiento experimental.</i>	70
5.4.3	<i>Cálculo de la eficiencia de la fermentación del zumo de pomarrosa</i>	71
5.5	<i>Resultados de la concentración de sustrato teórico y experimental para los diferentes.... modelos cinéticos</i>	71

5.6 Resultados de la velocidad de reacción teórica y experimental para los diferentes modelos cinéticos.	72
5.7 Resultados de la concentración de sustrato teórico y experimental para el experimento realizado en el biorreactor.	72
5.8 Resultados de la velocidad de reacción teórica y experimental para el experimento realizado en el biorreactor	73
5.9 Resultados de las tasas de rendimiento de eficiencia del producto obtenido	73
5.10 Diagramas de la concentración de sustrato teórico y experimental en función del tiempo.	74
5.11 Diagramas de la concentración de sustrato teórico y experimental en función del tiempo del experimento realizado en el biorreactor.	80
5.12 Diagramas del consumo de sustrato, concentración de biomasa, y formación de producto en función del tiempo.	80
5.13 Diagramas del consumo de sustrato, concentración de biomasa, y formación de producto en función del tiempo para el biorreactor.	86
5.14 Resultados del volumen y grado alcohólico obtenido después de la destilación	87
5.15 Cálculo del grado de aceptabilidad (GA).	88
5.15.1 <i>Cálculo estadístico del grado de aceptabilidad</i>	92
5.16 Cálculo estadístico ANOVA para determinar la influencia de los tres factores en el rendimiento del etanol obtenido.	94
 6 DISCUSIÓN	 103
 7 CONCLUSIONES	 106
 8 RECOMENDACIONES	 108
 CITAS BIBLIOGRÁFICAS.	 109
 BIBLIOGRAFÍA.	 112
 ANEXOS.	 114

LISTA DE TABLAS

	Pág
Tabla 1. Condiciones de trabajo para la obtención de etanol	41
Tabla 2. Datos del etanol formado para los casos A,B,C,D	42
Tabla 3. Datos del etanol formado para los casos E,F,G,H.....	43
Tabla 4. Datos del etanol formado para los casos I,J,K,L	44
Tabla 5. Datos del etanol obtenido del biorreactor para el CASO G	45
Tabla 6. Porcentaje de azúcares reductores para los casos: A,B,C,D	46
Tabla 7. Porcentaje de azúcares reductores para los casos: E,F,G,H	47
Tabla 8. Porcentaje de azúcares reductores para los casos I,J,K,L	48
Tabla 9. Datos de azúcares reductores para el biorreactor: CASO G	49
Tabla 10. Crecimiento microbiano para los casos: A,B,C,D	50
Tabla 11. Crecimiento microbiano para los casos E,F,G,H	51
Tabla 12. Crecimiento microbiano para los casos: I,J,K,L	52
Tabla 13. Crecimiento microbiano monitoreado en el biorreactor, CASO G	53
Tabla 14. Datos de las pruebas de catación: grupo masculino	54
Tabla 15. Datos para pruebas de catación: grupo femenino.....	55
Tabla 16. Volumen necesario para concentrar el zumo de la pomarroja	58
Tabla 17. Rendimiento de azúcares reductores para los casos: A,B,C,D.....	60
Tabla 18. Rendimiento de azúcares reductores para los casos: E,F,G,H	60
Tabla 19. Rendimiento de azúcares reductores para los casos: I,J,K,L.....	61
Tabla 20. Rendimiento de azúcares reductores para el biorreactor, CASO G	61
Tabla 21. Datos necesarios para linealizar la ecuación de Michaelis Menten	63
Tabla 22. Linealización de la ecuación del modelo autocatalítico	66
Tabla 23. Datos necesarios para linealizar la ecuación de Monod.....	69
Tabla 24. Concentración de sustrato experimental y teórico	72
Tabla 25. Velocidades de reacciones experimentales y teóricas.....	73
Tabla 26. Concentración de sustrato teórico y experimental del biorreactor	73
Tabla 27. Velocidad de reacción teórica y experimental obtenidos del biorreactor.....	74
Tabla 28. Rendimiento y eficiencia del etanol obtenido	74

Tabla 29. Volumen y grado alcohólico obtenido de la destilación	86
Tabla 30. Volumen y grado alcohólico del producto destilado del biorreactor	87
Tabla 31. Resultados del grado de aceptabilidad grupo masculino.....	88
Tabla 32. Resultados del grado de aceptabilidad: grupo femenino.....	89
Tabla 33. Puntaje total de la prueba de catación: grupo masculino	90
Tabla 34. Puntaje total de la prueba de catación: grupo femenino.....	90
Tabla 35. Datos de la prueba de catado para la muestra G.....	91
Tabla 36. Datos para el cálculo de S_o	92
Tabla 37. Diseño factorial para análisis de ANOVA	93
Tabla 38. Niveles de prueba para cada factor	94
Tabla 39. ANOVA completo para análisis de factores	99

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Composición química de las levaduras	9
Cuadro 2. Clasificación taxonómica de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	10
Cuadro 3. Taxonomía de la pomarrosa	25
Cuadro 4. Valor alimenticio por 100 gramos de la porción comestible	26
Cuadro 5. Caracterización físico-química de la pomarrosa.....	27

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Transformación de azúcares a etanol.....	5
Figura 2. Células de <i>Saccharomyces erevisiae</i>	8
Figura 3. Fases del crecimiento cinético celular	11
Figura 4. Velocidad de crecimiento celular y concentración de sustrato para determinación..... de las constantes de crecimiento biológico de la ecuación de Monod.	13
Figura 5. Efecto del pH en el crecimiento microbiano.....	14
Figura 6. Efecto de la temperatura en el crecimiento microbiano.....	14
Figura 7. Representación de la cinética autocatalítica	18
Figura 8. Rendimiento en un cultivo celular	21
Figura 9. Fruto del árbol de pomarrosa	22
Figura 10. Flor del árbol de pomarrosa	23
Figura 11. Partes del fruto de pomarrosa	24
Figura 12. Distribución de <i>Syzygium jambos</i> en la isla Floreana, agosto del 2006.....	30
Figura 13. Zonas cultivadas de pomarrosa en el Ecuador.....	31
Figura 14. Diseño experimental para la fermentación alcohólica del zumo de pomarra	33

LISTA DE GRÁFICOS

	Pág.
Gráfico 1. Concentración de sustrato en función del tiempo para el CASO G	62
Gráfico 2. Linealización de la ecuación de Michaelis Menten Caso G.....	63
Gráfico 3. Ecuación para la cinética de primer orden caso G	65
Gráfico 4. Ecuación para la cinética autocatalítica caso G	66
Gráfico 5. Concentración de biomasa en función del tiempo caso G	68
Gráfico 6. Linealización de la ecuación de Monod Caso G.....	70
Gráfico 7. Concentración de sustrato teórico y experimental CASO A.....	75
Gráfico 8. Concentración de sustrato teórico y experimental CASO B.....	75
Gráfico 9. Concentración de sustrato teórico y experimental CASO C.....	76
Gráfico 10. Concentración de sustrato teórico y experimental CASO D.....	76
Gráfico 11. Concentración de sustrato teórico y experimental CASO E	77
Gráfico 12. Concentración de sustrato teórico y experimental CASO F	77
Gráfico 13. Concentración de sustrato teórico y experimental CASO G.....	78
Gráfico 14. Concentración de sustrato teórico y experimental CASO H.....	78
Gráfico 15. Concentración de sustrato teórico y experimental CASO I	79
Gráfico 16. Concentración de sustrato teórico y experimental CASO J	79
Gráfico 17. Concentración de sustrato teórico y experimental CASO K.....	80
Gráfico 18. Concentración de sustrato teórico y experimental CASO L	80
Gráfico 19. Concentración de sustrato teórico y experimental caso G para el biorreactor	81
Gráfico 20. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo CASO A.....	81
Gráfico 21. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo CASO B	82
Gráfico 22. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo CASO C	82
Gráfico 23. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo CASO D.....	82
Gráfico 24. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo CASO E	83
Gráfico 25. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo CASO F	83
Gráfico 26. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo CASO G.....	83
Gráfico 27. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo CASO H.....	84
Gráfico 28. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo CASO I	84
Gráfico 29. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo CASO J	84

Gráfico 30. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo CASO K.....	85
Gráfico 31. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo CASO L	85
Gráfico 32. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo CASO G.....	
para el biorreactor	85
Gráfico 33. Niveles de interacción XY	101
Gráfico 34. Niveles de interacción YZ.....	102

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Figura del experimento realizado en recipientes plásticos.....	116
Anexo B. Figura del equipo cromatográfico (HPLC) usado en la medición.....	
del etanol.....	117
Anexo C.1. Figura de la determinación de azúcares reductores.....	118
Anexo C.2. Figura del titulador Karl Fischer para determinar azúcares reductores.....	119
Anexo D. Activación de la levadura <i>Saccharomyces Cereviseae</i> en estufas a 28°C.....	120
Anexo E. Figura de la fermentación alcohólica realizada en el biorreactor.....	121
Anexo F. Figura de la destilación del zumo fermentado.....	122
Anexo G. Tabla de puntos críticos al 5% de la distribución F.....	123
Anexo H. Tabla de distribución T student.....	124
Anexo J. Norma INEN 350 para el ensayo de catado.....	125
Anexo K. Cromatogramas obtenidos del monitoreo de Etanol en el HPLC.....	126

MODELACIÓN CINÉTICA DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DEL ZUMO DE POMARROSA

RESUMEN

Obtención de modelos cinéticos del proceso de fermentación alcohólica del zumo de la pomarrosa mediante el uso de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

La experimentación se desarrolló manteniendo constante la temperatura y analizando los efectos que tienen las variables: concentración de sustrato (18°, 20° y 22° brix), pH (3,5 y 4,5) y porcentaje de levadura (2,5% y 3,5%) en el proceso fermentativo. La levadura usada en las fermentaciones fue adaptada al medio para su crecimiento y colocada con el zumo en recipientes plásticos. Durante 12 horas se monitoreó la formación de etanol mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC), el consumo de sustrato por cuantificación de azúcares reductores y el crecimiento microbiano por el método del peso seco. La muestra de mayor aceptación mediante pruebas de catación es la de 5,084°GL, que se concentró hasta 20,6°GL, ésta se genera a partir de un sustrato de 20° brix, 3,5% de levadura y 3,5 de pH. A estas condiciones se llevó a cabo nuevamente el experimento en un biorreactor con el fin de ratificar los resultados.

Se obtuvieron los modelos cinéticos para cada una de las condiciones, determinando que el mejor modelo corresponde a la cinética de primer orden.

PALABRAS CLAVES: /MODELOS MATEMÁTICOS/ CINÉTICA DE REACCIÓN/ ZUMOS DE FRUTAS/ POMARROSA/ SYZYGIUM JAMBOS/ FERMENTACIÓN ALCOHOLICA/ ALCOHOL ETÍLICO/

KINETIC MODELING OF ALCOHOLIC FERMENTATION ROSE APPLE JUICE

ABSTRACT

Obtaining of kinetic models of the process of alcoholic fermentation of the juice of intervening rose apple the use of yeast *Saccharomyces cereviciae*.

The experimental work developed maintaining the temperature constantly and examining the effects that have the variables: substrate concentration (18°, 20° y 22° brix), pH (3,5 y 4,5) and percentage of yeast (2,5 y 3,5%)The yeast used in fermentation was adapted to the medium for growth and placed with the juice in plastic containers.For 12 hours ethanol formation was monitored by high pressure liquid chromatography (HPLC), substrate consumption by quantification of reducing sugars and microbial growth on the dry weight method. The larger sample acceptance testing of cupping is 5,084 ° GL, it was concentrated to 20.6 ° GL, it is generated from a substrate of 20 ° Brix, 3.5% yeast and 3.5 of pH.These conditions are again carried out the experiment in a bioreactor in order to confirm the results.

For each condition were obtained kinetic models, determining the best model corresponds to the first order kinetics.

KEYWORDS: MATHEMATICAL MODELS / REACTION KINETICS / FRUIT JUICE / ROSE APPLE / SYZYGIUM JAMBOS / FERMENTATION ALCOHOL / ETHANOL/

INTRODUCCIÓN

En el Ecuador existen pequeñas industrias dedicadas a la producción de alcohol a partir de diferentes materias primas como frutas y caña de azúcar, esta producción es realizada de forma artesanal en donde no se adiciona fermento del tipo comercial como levadura *Saccharomyces cerevisiae*, es por ello que la conversión de azúcares en alcohol es menor, consecuentemente los rendimientos son muy bajos.

En la actualidad la vía fermentativa para producir etanol es competitiva, ya que, es sostenible y se trabaja fundamentalmente en la búsqueda de materias primas con mejores y nuevas características organolépticas, que puedan sustituir a las tradicionales y que vayan acorde con las exigencias de consumidores, de esta manera se busca generar también una mayor eficiencia en los procesos de fermentación, aprovechando la gran cantidad de frutas exóticas existentes en el Ecuador, precisamente el aprovechamiento de estas frutas para obtener nuevas bebidas alcohólicas, puede ser una de las alternativas para hacer más sostenible el cultivo de las mismas en nuestro país.

Aunque hoy en día se cuenta con una gran variedad de frutas exóticas en el país para obtener bebidas mediante fermentación, desde el punto de vista científico resulta valioso descubrir nuevos aromas que nos permitan obtener productos con nuevos sabores.

Muchos son los factores determinantes para obtener un producto de calidad; desde tiempos remotos la producción de bebidas alcohólicas ha logrado poco a poco ir determinando estos detalles, que influyen directa o indirectamente en las características finales del producto.

En un proceso fermentativo es deseable maximizar la producción de un metabolito deseado; no obstante, no es una tarea sencilla de lograr, dado que la fermentación es afectada por factores: ambientales, fisicoquímicos, biológicos o por la carencia de un adecuado conocimiento del sistema. Modelar un proceso de fermentación presenta ventajas como: estimación de parámetros, control del proceso, una adecuada interpretación del fenómeno, además obtener un modelo para la descripción cinética de la fermentación alcohólica es de gran interés para

conocer las variaciones que sufre el proceso por las fluctuaciones de la calidad de materia prima, lo cual tiene su impacto en el rendimiento y la conversión.

La transformación de azúcares a etanol es un proceso microbiológicamente complejo en el que, si no se tiene cuidado, pueden participar algunas especies microbianas diferentes, procedentes tanto de la fruta, como de los equipos usados, y naturalmente de los cultivos iniciadores utilizados para garantizar el buen resultado del proceso. Las características fisiológicas de las cepas van a determinar su capacidad de crecimiento o supervivencia en las diferentes etapas del proceso, los productos de su metabolismo, y la forma como interacciona con algunos otros microorganismos presentes.

En términos cuantitativos la principal transformación que tiene lugar durante la obtención de alcohol es la fermentación, de la que la levadura *Saccharomyces cerevisiae* es la principal especie responsable. Sin embargo durante la fermentación las levaduras son también responsables de la producción de otras moléculas de pequeño tamaño (como glicerol, acetato, succinato, piruvato, y varios ésteres) que contribuyen a las propiedades sensoriales del producto obtenido. Además las levaduras liberan constituyentes celulares como proteínas y polisacáridos, que juegan también un papel relevante en la calidad. La escasa disponibilidad de datos sobre la tecnología de elaboración y las características fisicoquímicas y sensoriales particulares de una bebida fermentada a partir del zumo de pomarrosa hace que sea necesario adaptar prácticas enológicas y comprobar los resultados del producto obtenido con estudios que ya se han realizado con otro tipo de frutas.

En el presente trabajo se estudia la cinética de la fermentación alcohólica del zumo de pomarrosa, una fruta exótica, poco explotada en nuestro país; usando *Saccharomyces cerevisiae*, y tomando en cuenta la influencia de factores como: la concentración del grado brix, el pH, la temperatura, el porcentaje de levadura. Durante el desarrollo de la experimentación se monitoreó la formación de etanol mediante técnica HPLC, el consumo de sustrato y el consumo de azúcares reductores para controlar el proceso.

La fermentación alcohólica se llevó a cabo en un reactor discontinuo, realizando un acondicionamiento al zumo de pomarrosa para hacerlo apropiado a las levaduras de la fermentación, se obtuvo un ajuste cinético de primer orden, ya que a concentraciones bajas de sustrato existe una dependencia aproximadamente lineal de la velocidad de reacción respecto a la concentración de sustrato.

1 PROCESO FERMENTATIVO

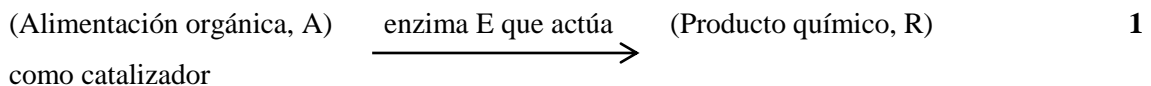
1.1 Fermentación.

“Desde el punto de vista bioquímico, la fermentación es un proceso mediante el cual las sustancias orgánicas (sustrato) sufren una serie de cambios químicos (reducciones y oxidaciones) que producen energía; cuando finaliza la fermentación se presenta una acumulación de varios productos, unos más oxidados (aceptadores de electrones) y otros más reducidos (donaron electrones) que el sustrato”. [1]

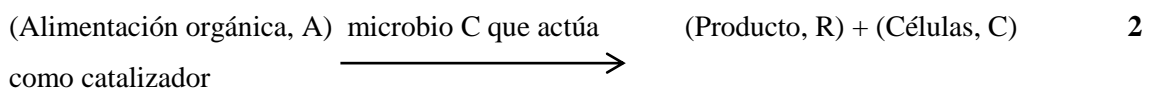
Desde el punto de vista microbiológico es un proceso en el que los microorganismos producen metabolitos o biomasa, a partir de utilización de sustancias orgánicas en ausencia de oxígeno; la descomposición de los sustratos es llevada a cabo por enzimas producidas por los microorganismos para tal finalidad.

1.1.1 Clasificación.

1.1.1.1 Fermentaciones promovidas por microorganismos y por enzimas. Las fermentaciones pueden dividirse en dos grupos generales: aquellas promovidas y catalizadas por microorganismos o microbios (levaduras, bacterias, algas, mohos, protozoos) y aquellas promovidas por enzimas (sustancias químicas producidas por microorganismos). “Las fermentaciones enzimáticas pueden representarse por:



Las reacciones microbianas pueden representarse por:



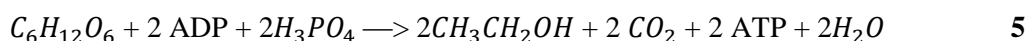
La distinción clave entre estos dos tipos de fermentaciones es que en la fermentación enzimática el agente catalítico, la enzima, no se reproduce, sino que actúa como cualquier sustancia química ordinaria, mientras que en la fermentación microbiana el agente catalítico, la célula o microbio, se reproduce. Dentro de las células se encuentra la enzima que cataliza la reacción, como en la fermentación enzimática; sin embargo, al producirse la célula, esta fabrica su propia enzima”. [2]

1.1.1.2 Fermentación alcohólica. La fermentación alcohólica, denominada también como fermentación del etanol, es un proceso biológico de fermentación en plena ausencia de aire, originado por la actividad de algunos microorganismos que procesan los hidratos de carbono (por lo general azúcares como: la glucosa, la fructosa, la sacarosa, el almidón, etc.) para obtener como productos finales: un alcohol en forma de etanol (cuya fórmula química es: CH_3CH_2OH), dióxido de carbono (CO_2) en forma de gas y unas moléculas de ATP (Adenosintrifosfato) que consumen los propios microorganismos en su metabolismo celular energético anaeróbico. El etanol resultante se emplea en la elaboración de algunas bebidas alcohólicas, tales como el vino, la cerveza, la sidra, el cava, etc.

“En la fermentación alcohólica las levaduras descarboxilan el piruvato obtenido de la ruta Embden-Meyerhof-Parnas (glicolisis) dando acetaldehído, y éste se reduce a etanol por la acción del NADH2 (Nicotinamida adenina dinucleótido). Siendo la reacción global, conocida como la ecuación de Gay-Lussac:



El balance energético de la fermentación puede expresarse de la siguiente forma:



La transformación de glucosa en alcohol supone la cesión de 40 kcal. Mientras que la formación de un enlace de ATP necesita 7,3 kcal, por tanto se requerirán 14,6 kcal, al crearse dos enlaces de ATP, tal y como se muestra en la ecuación 3. Esta energía es empleada por las levaduras que llevan a cabo la fermentación alcohólica para crecer. De forma que sólo quedan, $40 - 14,6 = 25,6$ kcal que se liberan, calentando la masa de fermentación”. [3]

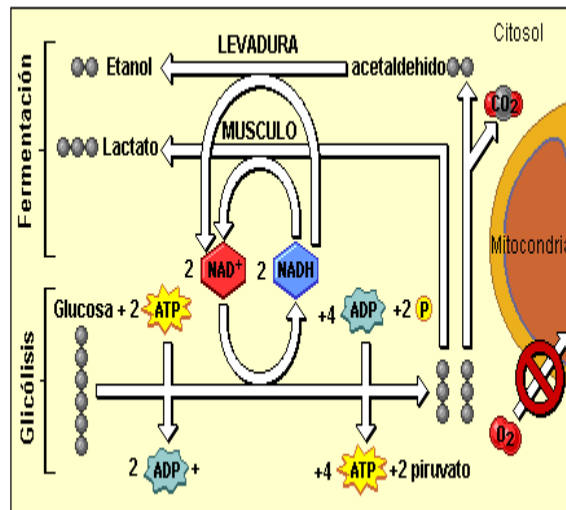


Figura 1. Transformación de azúcares a etanol

1.1.1.3 Fermentación discontinua. Llamados también procesos “Batch” o lote, son de gran importancia dentro de la biotecnología y son de gran uso industrial. Las técnicas que se llevan a cabo dependerá si el proceso es aerobio o anaerobio.

“Un proceso discontinuo o “Batch” puede considerarse como un sistema cerrado. A tiempo cero, la solución esterilizada de nutrientes se inocula con microorganismos y se permite que se lleve a cabo la fermentación en condiciones óptimas. A lo largo de la fermentación no se adiciona nada, excepto ácidos o bases para controlar el pH. La composición del medio, la concentración de sustrato, la concentración de biomasa y la concentración de metabolitos cambia continuamente como resultado del metabolismo de la célula”. [4]

1.1.1.4 Fermentación continua. En la fermentación continua se establece un sistema abierto. La solución nutritiva estéril se añade continuamente al biorreactor y una cantidad equivalente del cultivo, con los microorganismos, se saca simultáneamente del sistema.

1.1.2 Factores que influyen en el proceso fermentativo.

1.1.2.1 Concentración de sustrato. El mosto para fermentación alcohólica debe tener una concentración entre 12 a 22 °brix, pues si la concentración de °brix es muy bajo el grado alcohólico obtenido será pobre, por lo contrario si la concentración de °brix es muy alto la fermentación no se efectúa, pues la presión osmótica que se ejerce sobre las levaduras es grande y no permite que actúen sobre los azúcares.

1.1.2.2 pH. La levadura trabaja mejor en medio relativamente ácido por lo que el pH debe mantenerse entre 3.0 y 5.0, por lo que deberá ajustarse el mosto a este requerimiento.

1.1.2.3 Temperatura. La temperatura durante la fermentación debe controlarse pues durante la misma se produce un relativo aumento de esta, pues la descomposición de los azúcares produce una reacción exotérmica es decir con desprendimiento de calor. La temperatura óptima para la fermentación oscila entre 24 y 35°C siendo 34 ° C la más adecuada. Si la temperatura es muy baja la fermentación es lenta, si la temperatura excede de los 35°C disminuye la acción de las levaduras y si esta aumenta por encima de los 40 esta se puede detener.

1.1.2.4 Nutrientes. La levadura necesita la presencia de nutrientes para que la fermentación sea correcta, pues como ser vivo necesita alimentarse para poder trabajar. Los nutrientes más importantes para las levaduras son el nitrógeno y el fósforo, para ello debemos utilizar la urea y el fosfato de amonio, el primero como suministro de nitrógeno y el segundo de fósforo.

1.1.2.5 Concentración de etanol. Una vez terminada la fermentación tenemos un producto alcohólico que oscila entre 6 y 12 °GL, dependiendo de la eficiencia que haya tenido el proceso. Una vez se ha clarificado el alcohol, este debe ser rectificado, es decir aumentar su grado alcohólico.

Una de las limitaciones del proceso es la resistencia de las levaduras a las concentraciones de etanol que se llegan a producir durante la fermentación, levaduras como *Saccharomyces cerevisiae* llegan a soportar hasta 20% de concentración en volumen.

1.1.2.6 Contacto con el aire. Si se produce un contacto del aire con el mosto en fermentación, se puede producir bajos rendimientos, esto porque el proceso fermentativo se detiene.

1.1.2.7 Selección del microorganismo fermentador. “El éxito o fracaso de un proceso fermentativo comienza con el microorganismo utilizado, en la elección del mismo se deberían tener en cuenta ciertos criterios generales que se indican a continuación:

- La cepa a utilizar debe ser genéticamente estable.
- Su velocidad de crecimiento debe ser alta.
- La cepa debe de estar libre de contaminantes.
- Sus requerimientos nutricionales deberían ser satisfechos a partir de medios de cultivo de costo reducido.

- Debe ser de fácil conservación por largos períodos de tiempo, sin pérdida de sus características particulares.
- Debería llevar a cabo el proceso fermentativo completo, en un tiempo corto”. [5]

1.2 Levaduras

Las levaduras son un grupo de hongos unicelulares cuya actividad ha sido siempre de gran importancia, estos organismos son abundantes especialmente en donde existe la presencia de azúcares y son capaces de transformar los hidratos de carbono en alcohol y CO_2 .

Para las fermentaciones a gran escala existen cepas modificadas genéticamente, como es el caso de levaduras industriales, con el fin de aumentar su capacidad de producción y resistencia a factores no óptimos, tales como altas temperaturas, elevadas concentraciones de etanol, entre otros. La diferencia existente entre las levaduras de uso industrial y las de uso cotidiano, o de panificación, se basan en que estas últimas no poseen resistencia a altas concentraciones de etanol y a variaciones ocasionadas en el medio donde se encuentran, es decir, una pequeña modificación en las condiciones óptimas de trabajo repercute directamente en su rendimiento.

Las levaduras son de forma esférica, ovalada o cilíndrica y en general la división celular se lo lleva a cabo por gemación.

Algunas levaduras se reproducen sexualmente a lo que se conoce como apareamiento, en la cual dos células se fusionan.

1.2.1 Clasificación de las levaduras. La forma de las levaduras es muy variable y depende tanto de la especie como de las condiciones de cultivo. En condiciones normales se distinguen 4 tipos:

- | | |
|----------------------------------------|---------------------|
| - <i>Saccharomyces cerevisiae</i> : | células redondeadas |
| - <i>Saccharomyces elípticoideus</i> : | células elípticas |
| - <i>Saccharomyces apiculatus</i> : | forma de limones |
| - <i>Saccharomyces uvarum</i> : | forma de salchichas |

En cuanto al tamaño suele estar comprendido entre 5 y 8 micras.

En la naturaleza existen numerosas especies de levadura, pero las de mayor interés en el campo de las bebidas alcohólicas corresponden al género *Saccharomyces*; este género comprende 30 especies y 3 variedades que se distinguen por su acción fermentativa.

Las levaduras utilizadas en la industria de bebidas fermentadas son:

- a) ***Saccharomyces cerevisiae*** .“*S. cerevisiae* es un hongo levaduriforme que presenta células alargadas, globosas o elipsoidales, pudiendo encontrarse en agrupaciones de dos, en cadenas cortas, racimos o bien sin agruparse. La apariencia de las colonias es muy diversa: de color crema a ligeramente café, de lisas a rugosas, en ocasiones sectorizadas y brillantes u opacas. Esta levadura crece de forma óptima en pH's ácidos y fermenta la glucosa, fructosa, sacarosa, maltosa y maltotriosa”. [6]

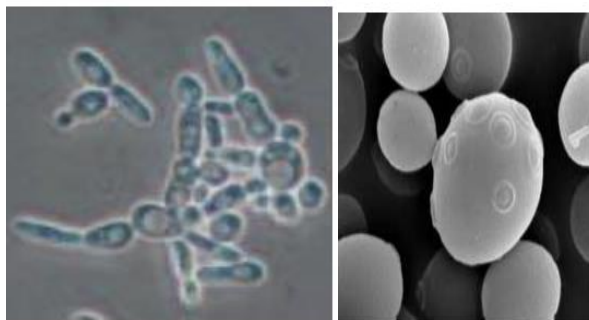


Figura 2. Células de *SaccharomycesCerevisiae*

- b) ***Saccharomyces uvaruní***. "Esta levadura se caracteriza por tener células frecuentemente grandes, alargadas y en forma de salchicha fermentan la glucosa, sacarosa, maltosa y rafinosa.

Existen otro tipo de levaduras como: *Kloeckeraapiculata* (levadura de bajo poder fermentativo, presente en las vinificaciones) y *Saccharomycesbayanus* (de alto poder fermentativo, presente también en las vinificaciones). Otra utilidad interesante de la fermentación alcohólica es la producción a gran escala de bioetanol a partir de biomasa”. [7]

1.2.2 Composición química de las levaduras

Cuadro 1. Composición química de las levaduras

Carbohidratos	18-44%
Proteínas	36-60%
Ácido Nucleico	4-8%
Lípidos	4-7%
Inorgánicos Totales	6-10%
Fósforo	1-3%
Potasio	1-3%
Sulfato	0,4%

Fuente: JAGNOW, H. "Biotecnología, Introducción con experimentos modelo". Editorial Acribia, S.A. Primera Edición, Zaragoza, 1991. p. 69

1.2.3 Requerimientos nutricionales. De las fuentes de carbono y energía que pueden emplear las levaduras figuran en primer lugar la glucosa y la sacarosa, aunque también pueden emplearse fructuosa, galactosa, maltosa.

El nitrógeno asimilable debe administrarse en forma de amoníaco, urea o sales de amonio, aunque también se pueden emplear mezclas de aminoácidos. Ni el nitrato ni el nitrito pueden ser asimilados.

Estos microorganismos también necesitan los elementos: carbono, hidrógeno, oxígeno, fósforo, potasio, azufre, magnesio, hierro, cinc, manganeso, cobre y molibdeno.

1.2.4 Clasificación taxonómica de *Saccharomyces cerevisiae*. "Las cepas de levadura más empleadas en la fabricación del vino, cerveza y pan, son las correspondientes a la especie *Saccharomyces cerevisiae*. Esta levadura sigue un metabolismo fermentativo cuando está en condiciones anaerobias, pero cuando hay oxígeno hace una respiración aerobia y no produce alcohol. Este fenómeno se conoce como efecto Pasteur, y es determinante en la industria de bebidas alcohólicas, pues para que la producción de etanol sea correcta, las levaduras deben desarrollarse en ausencia de oxígeno". [8]

Cuadro 2. Clasificación taxonómica de *Saccharomyces cerevisiae*

Clasificación taxonómica de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
Reino	Hongo
División	Amastogomycota
Clase	Ascomycetes
Subclase	Hemiascomycetidae
Orden	Endomycetales
Familia	Saccharomycetaceae
Subfamilia	Saccharomycetidae
Genero	Saccharomyces
Especie	Cerevisiae

Fuente: MERCHUK, José, “Microbiología Industrial”, Editorial Limusa, Segunda Edición, España 1999. p. 36

1.3 Cinética de crecimiento

La microbiología comprende el estudio de una amplia variedad de sistemas vivientes “inferiores” que incluyen virus, bacterias, algas, hongos simples como las levaduras y mohos; su crecimiento se puede considerar como el aumento ordenado de todos los constituyentes químicos de un organismo, lo cual para organismos unicelulares conduce a un aumento en el número de individuos en la población.

Desde un punto de vista matemático existe poca diferencia entre las ecuaciones cinéticas para enzimas y células, después de todo, el metabolismo celular depende de la acción integrada de multitud de enzimas.

1.3.1 Crecimiento en un cultivo discontinuo. “En un cultivo discontinuo se observan varias fases de crecimiento celular, las cuales se describen a continuación:

- a) **Fase de adaptación:** Representa el periodo de adaptación de microorganismos en un medio nuevo, durante esta fase, inmediatamente después de la inoculación, la velocidad de crecimiento es prácticamente cero.

- b) Fase exponencial:** Es la fase de crecimiento equilibrado en donde la síntesis de todos los nutrientes celulares aumenta a una velocidad constante de modo que la población de células se duplica continuamente a intervalos regulares.
- c) Fase estacionaria:** Esta fase se caracteriza por ningún crecimiento neto, de hecho el crecimiento puede estar ocurriendo, pero está equilibrado por la rapidez de muerte o lisis celular. Las células pueden permanecer viables como resultado de la disminución de algún nutriente esencial, la formación de productos tóxicos o de un cambio físico en el medio.
- d) Fase de muerte celular:** Es una fase de declinación, durante este periodo la fase de desaparición puede volverse más alta que la rapidez de crecimiento, en cuyo caso disminuye la densidad de las células”. [9]

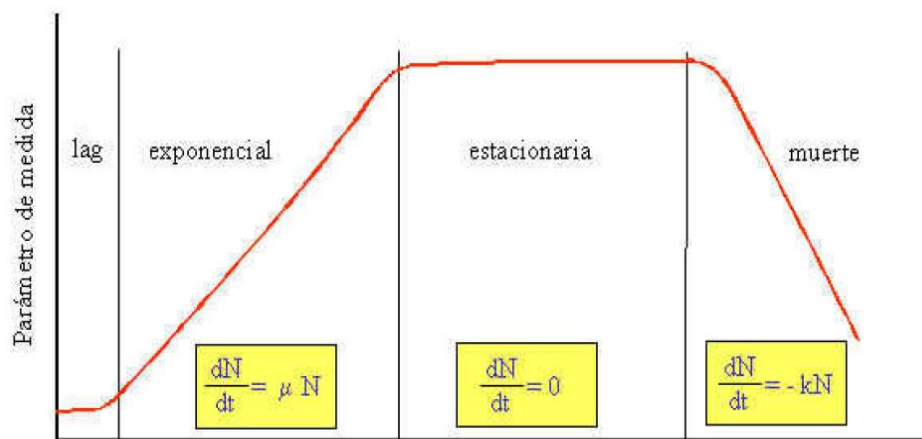


Figura 3. Fases del crecimiento cinético celular

“Durante las fases de crecimiento y desaceleración, la velocidad de crecimiento celular se describe mediante la ecuación:

$$r_x = \mu x \quad (1)$$

Dónde: r_x : es la velocidad volumétrica de producción de biomasa con unidades de, por ejemplo, $kgm^{-3}s^{-1}$, x la concentración de células viables con unidades, por ejemplo, de kgm^3 , y μ la velocidad específica de crecimiento. La velocidad específica de crecimiento tiene dimensiones T^{-1} .

El crecimiento celular puede considerarse como una reacción autocatalítica de primer orden. En un sistema cerrado en donde el crecimiento es el único proceso que afecta a la concentración celular, $r_x = dx/dt$, e integrando la ecuación 4, se obtiene una expresión para x en función del tiempo. Si μ es constante, puede integrarse directamente con la condición inicial $x = x_o$ a $t = 0$, para obtener:

$$x = x_o e^{\mu t} \quad (2)$$

Donde x_o es la concentración de células en el tiempo cero.

La expresión de la ecuación 5 representa un crecimiento exponencial, tomando logaritmos, se obtiene:

$$\ln x = \ln x_o + \mu t \quad (3)$$

De acuerdo a esta ecuación una representación de $\ln x$ frente al tiempo daría una línea recta de pendiente μ .

Como la relación de esta ecuación únicamente es válida si μ no varía, para determinar si la velocidad específica de crecimiento es constante se utiliza normalmente una representación de $\ln x$ frente a t. Como se muestra en la Figura 9, μ es generalmente constante durante la fase de crecimiento” [10]

1.3.2 Efecto de la concentración de sustrato. “La velocidad específica de crecimiento de las células durante las fases de crecimiento y desaceleración de un cultivo discontinuo, depende de la concentración de nutrientes existente en el medio. A menudo un único sustrato ejerce un efecto dominante sobre la velocidad de crecimiento. Este componente es lo que se denomina como sustrato limitante de la velocidad de crecimiento o simplemente sustrato limitante del crecimiento. El sustrato limitante del crecimiento es a menudo la fuente de carbono o de nitrógeno aunque en algunos casos es el oxígeno u otro oxidante como los nitratos.

Durante el crecimiento equilibrado, la velocidad específica de crecimiento está relacionada con la concentración de sustrato limitante del crecimiento mediante la Ecuación de Monod, una expresión homóloga a la de Michaelis-Menten.” [11]

$$\mu = \frac{\mu_{max}S}{K_S + S} \quad (4)$$

En donde: S: Concentración de sustrato limitante del crecimiento

μ_{max} : Velocidad específica máxima de crecimiento.

K_S : La constante de sustrato.

La ecuación de Monod tiene una aplicación limitada a niveles de sustrato extremadamente bajos. Cuando el crecimiento se ve inhibido por concentraciones altas de sustrato o de producto deben añadirse otros términos a la ecuación de Monod para tener en cuenta estos efectos.

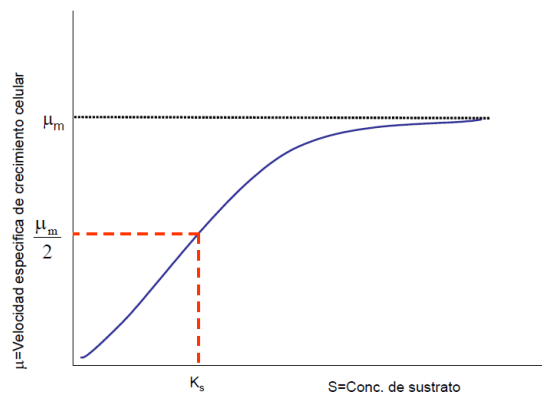


Figura 4. Velocidad de crecimiento celular y concentración de sustrato para determinación de las constantes de crecimiento biológico de la ecuación de Monod.

1.3.3 Efecto del pH en el crecimiento microbiano. Los microorganismos pueden crecer en una variada gama de pH que va desde pH=2 para los acidófilos hasta pH=11 para alcalófilos, En general los microorganismos que toleran pH ácidos, como la *Saccharomyces cerevisiae*, no toleran pH alcalinos. Independientemente de que un pH pueda soportar un microorganismo, es importante conocer cuál es el pH óptimo para el crecimiento.

En la figura 5 está representada en forma general la variación de la velocidad específica de crecimiento (μ_m) con el pH para hongos y bacterias. De la misma surge claramente que en general los microorganismos como *Saccharomyces cerevisiae* tienen un pH óptimo cercano a 5 mientras que para bacterias se da alrededor de 7; además debido a la forma achatada de las curvas, variaciones de 0,5 unidades de pH alrededor del óptimo no tiene mayor influencia.

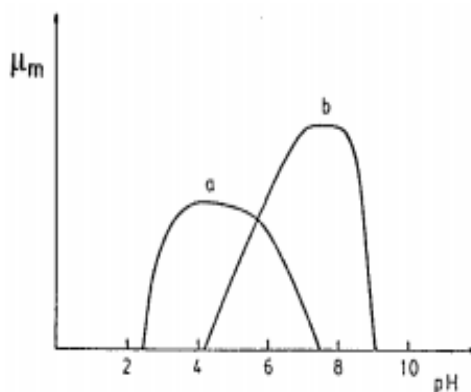


Figura 5. Efecto del pH en el crecimiento microbiano

1.3.4 Efecto de la temperatura en el crecimiento microbiano. El efecto de la temperatura sobre el crecimiento es complejo. Por un lado cada reacción química individual, de todas las que conforman el metabolismo, es afectada por la temperatura, por lo que un incremento de ésta, resulta en una mayor velocidad de reacción. Esto se traduce en un aumento de la velocidad de crecimiento específica con la temperatura (fig. 6). Por otra parte, aumentos posteriores de temperatura inactivan las enzimas que catalizan las reacciones, con lo que el valor de μ_m decrece rápidamente. La temperatura óptima resulta de la interacción de estos dos efectos. Como regla general, los microorganismos psicrófilos poseen temperatura óptima entre 10 y 20°C, los mesófilos entre 30 y 40°C y, finalmente, los termófilos entre 50 y 60°C. La necesidad de mantener la temperatura de cultivo en el valor óptimo, hace que los biorreactores (fermentadores) cuenten con dispositivos apropiados para tal fin.

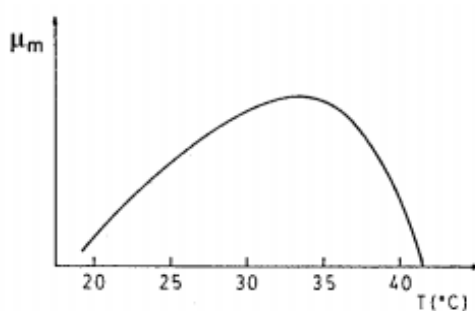


Figura 6. Efecto de la temperatura en el crecimiento microbiano

1.3.5 Cinética de orden cero. Si una reacción obedece a una cinética de orden cero, la velocidad de reacción es independiente de la concentración de reactante.

La expresión cinética es:

$$r_A = k_o \quad (5)$$

Donde r_A es la velocidad volumétrica con respecto a A y k_o la constante de velocidad de orden cero, esta es una constante de velocidad volumétrica con unidades, por ejemplo, de $kmol/m^3s$. Para representar la velocidad de una reacción celular o enzimática el valor de k_o incluye el efecto de la concentración de catalizador así como la velocidad específica de reacción.

La expresión cinética para las reacciones de orden cero es sencilla, se puede obtener una ecuación que exprese el valor de C_A en función del tiempo integrando la ecuación 8:

Con la condición inicial $C_A = C_{Ao}$ a $t=0$ se obtiene:

$$C_A = \int -r_A dt = C_{Ao} - k_o t \quad (6)$$

Cuando una reacción es de orden cero, una representación de C_A en función del tiempo dará una línea recta de pendiente $-k_o$.

1.3.6 Cinética de primer orden. “Si una reacción obedece a una cinética de primer orden, la relación entre velocidad de reacción y la concentración del reactante es:

$$r_A = k_1 C_A \quad (7)$$

Donde r_A es la velocidad volumétrica de reacción y k_1 la constante de velocidad de primer orden con dimensiones T^{-1} . Al igual que la constante de orden cero, el valor de k_1 depende de la concentración del catalizador.

Para calcular si la reacción sigue una cinética de primer orden, en primer lugar se integrará la ecuación 6, con $r_A = dC_A/dt$ y entonces se comprobarán los datos de concentración frente a la ecuación obtenida. Separando variables e integrando la ecuación con la condición inicial $C_A = C_{Ao}$ a $t=0$ se obtiene:

$$C_A = C_{Ao} e^{-k_1 t} \quad (8)$$

Tomando logaritmos a ambos lados:

$$\ln C_A = \ln C_{Ao} - k_1 t \quad (9)$$

Por lo tanto, para una reacción de primer orden al representar $\ln C_A$ frente al tiempo se obtiene una línea recta de pendiente $-k_1$ ". [12]

1.3.7 Cinética de Michaelis Menten. “La ecuación de Michaelis Menten describe satisfactoriamente el comportamiento de muchas enzimas industriales aunque existen algunas excepciones como la glucosa isomerasa y la amiloglucosidasa. Si existen algunos sustratos o se perciben efectos de inhibición, se deben utilizar expresiones cinéticas más complejas”. [13]

La cinética de la mayoría de reacciones enzimáticas se representa mediante la siguiente ecuación:

$$r_A = \frac{V_{max}C_A}{K_m + C_A} \quad (10)$$

En donde: r_A : Velocidad volumétrica de reacción.

C_A : La concentración de reactante.

V_{max} : Velocidad máxima de reacción a concentración infinita de reactante.

K_m : Constante Michaelis para el reactante.

Tal como está definido en la ecuación, V_{max} es una velocidad volumétrica proporcional a la cantidad de enzima activa presente en el medio.

La constante de Michaelis, K_m es igual a la concentración de reactante a la que $r_A = \frac{V_{max}}{2}$. Si se adoptan los símbolos convencionales para las reacciones biológicas y se denomina reactante A al sustrato, la ecuación 9, puede reescribirse de la manera más comúnmente conocida:

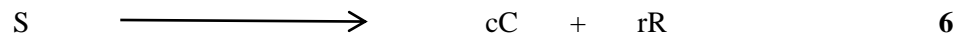
$$v = \frac{V_{max}S}{K_m + S} \quad (11)$$

Donde v es la velocidad volumétrica de reacción y s la concentración de sustrato.

La secuencia de reacción más simple que justifica las propiedades cinéticas de muchas enzimas es: $E + S \xrightleftharpoons{K_1} ES \rightarrow E + P$ donde E es enzima, S sustrato y P producto. ES es el complejo enzima-sustrato. La unión del sustrato a la enzima en la primera etapa se considera reversible con una constante de reacción directa K_1 y una constante de reacción inversa K_{-1} .

1.3.8 Cinética autocatalítica. “Se denomina reacción autocatalítica aquella en la que el producto actúa como catalizador. En este tipo de cinética, la velocidad de reacción en un inicio es pequeña debido al poco producto que se encuentra presente, aumenta cualitativamente hasta un valor máximo a medida que se forma el producto, y luego desciende nuevamente hasta un valor bajo, y a medida que el reactante se consume la velocidad tenderá a cero.

Este modelo fue propuesto por Michaelis Menten para fermentaciones microbianas, la reacción que lo caracteriza es:



$$-r_s = -\frac{dC_s}{dt} = k * C_c * C_s \quad (12)$$

Donde: C_c = Masa celular del microorganismo

C_{co} = Masa celular inicial del microorganismo

C_s = Masa de Sustrato

C_{so} = Masa de Sustrato inicial

r_s = Velocidad de reacción

Como la suma de las moles de S y C permanece constante a medida que S va desapareciendo, podemos escribir para cualquier instante:

$$C_{co} = C_s + C_c = C_{so} + C_{co} = \text{constante} \quad 7$$

Por consiguiente, la ecuación cinética será:

$$-r_s = -\frac{dC_s}{dt} = kC_s (C_o - C_s) \quad (13)$$

Efectuando operaciones y descomponiendo en fracciones parciales, resulta:

$$-\frac{dC_s}{C_s(C_o - C_s)} = -\frac{1}{C_o} \left(\frac{dC_s}{C_s} + \frac{dC_s}{C_o - C_s} \right) = k * dt \quad (14)$$

Integrando esta ecuación tenemos:

$$\ln \frac{C_c/C_{co}}{C_s/C_{so}} = (C_{so} + C_{co})kt \quad (15)$$

Donde k es la constante cinética.

Para saber si una reacción es autocatalítica se representan las coordenadas de tiempo y concentración correspondiente a la ecuación 17, como se indica en lafig2, y se observa si resulta una recta que pase por el origen”. [14]

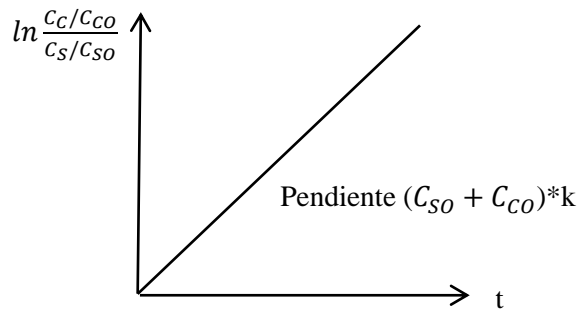


Figura 7. Representación de la cinética autocatalítica

1.3.9 Consumo de sustrato con formación de producto. Cuando se forman productos en las rutas de generación de energía, por ejemplo en cultivos anaerobios, la síntesis del producto es una consecuencia inevitable del crecimiento y del mantenimiento celular. Cuando los productos están directamente asociados al metabolismo energético, las ecuaciones para la velocidad de consumo de sustrato no incluyen un término separado para la producción, ya que el sustrato requerido para la formación de producto ya está incluido en los términos de consumo de sustrato asociados al crecimiento y al mantenimiento.

“En cultivos donde la síntesis de producto está asociado solo de forma indirecta al metabolismo energético, la velocidad de consumo de sustrato es función de tres factores: la velocidad de crecimiento, la velocidad de formación de producto y la velocidad de consumo de sustrato para el mantenimiento. Estas diferentes funciones de la célula pueden relacionarse mediante el rendimiento y los coeficientes de mantenimiento:

$$r_S = \frac{r_X}{Y_{XS}} + \frac{r_P}{Y_{PS}} + m_S x \quad (16)$$

Donde r_S es la velocidad volumétrica de consumo de sustrato, r_X la velocidad volumétrica de producción de biomasa, r_P la velocidad volumétrica de formación de producto, Y_{XS} el rendimiento verdadero de biomasa a partir de sustrato, Y_{PS} el rendimiento verdadero de producto a partir de sustrato, m_S el coeficiente de mantenimiento y x la concentración de biomasa”. [15]

1.4 Parámetros cinéticos celulares en un reactor discontinuo

Para determinar la cinética que sigue un proceso fermentativo, es necesario conocer los parámetros y rendimientos cinéticos para el sistema y disponer de información sobre velocidades de crecimiento, consumo de sustrato y de formación de producto. El cultivo en discontinuo es el método más aplicado frecuentemente para la determinación del comportamiento cinético, aunque no siempre es el más adecuado.

1.4.1 Velocidad de reacción. La velocidad de reacción puede representarse por la velocidad de conversión de un compuesto, por ejemplo si se tiene la siguiente reacción:



Para expresar la velocidad de reacción con respecto a A se utilizará el símbolo R_A y tiene unidades de kg/s. La velocidad de reacción R_A puede determinarse midiendo la variación de masa de A en el sistema:

$$R_A = - \frac{dM_A}{dt} \quad (17)$$

La velocidad de reacción también puede determinarse en función de los componentes B, Y o Z.

$$R_B = - \frac{dM_B}{dt} R_Y = \frac{dM_Y}{dt} R_Z = \frac{dM_Z}{dt} \quad (18)$$

Como R_Y y R_Z se basan en la acumulación de producto, estas velocidades de reacción se denominan velocidades de producción o productividad.

1.4.1.1 Velocidad volumétrica. La velocidad de reacción expresada en base de volumen se utiliza para tener en cuenta las diferencias en volumen entre diferentes sistemas de reacción.

Por lo tanto si la mezcla de reacción en un sistema cerrado tiene un volumen V:

$$r_A = \frac{R_A}{V} = - \frac{1}{V} \frac{dM_A}{dt} \quad (19)$$

Donde r_A es la velocidad volumétrica de reacción con respecto a A. Cuando V es constante, la ecuación 26 puede escribirse como:

$$r_A = - \frac{dC_A}{dt} \quad (20)$$

Donde C_A es la concentración de A unidades.

1.4.1.2 Velocidad específica. Al utilizar catalizadores celulares en reacciones biológicas, la velocidad de conversión dependerá de la cantidad de catalizador presente, es por ello que resulta útil especificar la velocidad como velocidad por cantidad de enzimas o células involucradas en la reacción. En un sistema la velocidad específica puede medirse de la siguiente manera:

$$r_A = - \left(\frac{1}{X} o \frac{1}{E} \right) \frac{dM_A}{dt} \quad (21)$$

Donde r_A es la velocidad específica de reacción con respecto de A, X la cantidad de células, E la cantidad de enzimas y $\frac{dM_A}{dt}$ la velocidad de cambio de masa de A en el sistema.

Si el volumen permanece constante, la ecuación 28 se puede expresarse así:

$$r_A = - \left(\frac{1}{x} o \frac{1}{e} \right) \frac{dC_A}{dt} \quad (22)$$

Donde x es la concentración de células y e es la concentración de enzimas.

1.4.2 μ_{max} y k_s . Para la velocidad específica de crecimiento, la ecuación de Monod es matemáticamente análoga a la expresión de Michaelis Menten para cinética enzimática, sin embargo puesto que los valores de K_s son generalmente muy bajos en un cultivo celular, la determinación precisa de este parámetro en un reactor discontinuo es algo difícil.

“Por otro lado la medición de μ_{max} a partir de datos en reactor discontinuo es relativamente sencillo, si todos los nutrientes están en exceso, la velocidad específica de crecimiento durante la fase de crecimiento exponencial es igual a la máxima velocidad específica de crecimiento” [16]

1.5 Rendimientos en un cultivo celular.

“Las expresiones para obtener los coeficientes de rendimientos pueden obtenerse aplicando las siguientes ecuaciones:

$$Y_{XS} = \frac{-dX}{dS} = \frac{r_X}{r_S} \quad (23)$$

$$Y_{PX} = \frac{-dP}{dX} = \frac{r_P}{r_X} \quad (24)$$

$$Y_{PS} = \frac{-dP}{dS} = \frac{r_P}{r_S} \quad (25)$$

Donde S, X y P son masa de células, sustrato y producto, respectivamente, y r_X , r_S y r_P son velocidades observadas evaluadas a partir los datos experimentales. Por lo tanto los coeficientes de rendimiento pueden calcularse representando X, S o P frente a cada uno de los otros y evaluando la pendiente en cada caso, tal como se muestra en la siguiente figura”: [17]

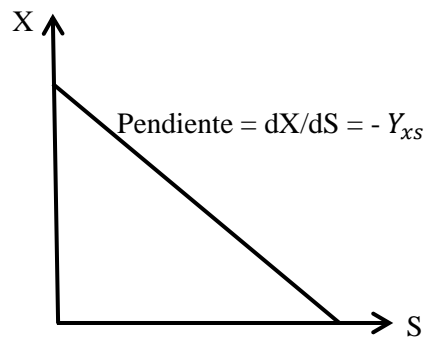


Figura 8. Rendimiento en un cultivo celular

2 POMARROSA



Figura 9. Fruto del árbol de pomarrosa

2.1 Descripción

“La pomarrosa puede ser un arbusto, pero generalmente es un árbol que alcanza los 25 o 40 pies (7,5-12 m) de altura, y tiene una densa copa de ramas bien esparcidas, a menudo la anchura total es superior a la altura. Sus ramas pueden extenderse hasta 6 metros desde el tronco. Para producir bien requiere un sitio a plena exposición solar. A pesar que su producción es mejor en sitios donde hay distinta sequía, esta especie se adapta bien en zonas muy húmedas con suelos pobres y pedregosos.

La pomarrosa también florece en los climas tropicales o cerca de los tropicales. En Jamaica, está naturalizada desde cerca del nivel del mar hasta una altitud de 3,000 pies (915m), en Hawai, desde el nivel del mar a 4,000 pies (1,200 m). En la India, llega hasta 4,400 pies (1,350 m). En el límite superior, como en California, el árbol crece vigorosamente, pero no dará frutos. En la India, se desarrolla mejor en las orillas de canales y arroyos pero tolera condiciones semi-áridas. Prolongados períodos de sequía, sin embargo, son perjudiciales.

Sus raíces son fibrosas, lo cual la hace una excelente especie para sembrar a los filos de los ríos para controlar la erosión.

La producción de la pomarrosa comienza a los 4 años desde la siembra con cosechas fuertes que ocurren en octubre. El resto del año se encuentra árboles esporádicamente en floración y con fruta de varias etapas de maduración”.[18]

En la India, la pomarrosa florece entre febrero y abril, en las Indias Occidentales muchos árboles florecen a través de todo el año, aunque la florecencia es menos frecuente durante el verano. Las frutas se maduran alrededor de 4 meses después de la florecencia. Las hojas perennes son opuestas, lanceoladas o estrecho-elípticas, disminuyendo hasta un punto, de 4 a 9 pulgadas (10-22 cm) de largo, y de 1 a 2 1/2 pulgadas (2.5-6.25 cm) de ancho, algo coriáceas, brillantes, de color verde oscuro cuando están maduras, de color rosado cuando son jóvenes.

Las flores son de color blanco crema o blanco-verdoso, de 2 a 4 pulgadas (5-10 cm) de ancho, las que consisten principalmente en alrededor de 300 estambres visibles de 1 1/2 pulgada (4 cm) de largo, un cáliz de 4 lóbulos, y 4 pétalos cóncavos blanco-verdosos. Generalmente están 4 o 5 flores juntas en racimos terminales.



Figura 10. Flor del árbol de pomarrosa

Las drupas carnosas son de color amarillo pálido, a veces con matices rosados, de 2 a 5 cm de diámetro y en forma de una manzana o pera pequeña. Los árboles creciendo a campo abierto rinden fruta en abundancia.

“La pulpa es dura y un poco seca. Su sabor es dulce y tiene un aroma de perfume. En el centro hueco, hay de 1 a 4 semillas en forma de nueces, recubiertas por una capa áspera de color marrón, son de dureza media, más o menos redondeadas y de 3/8 a 5/8 pulgadas (1-1.6 cm) de espesor y pueden contener de uno a cuatro embriones”.[19]

Debido a que la mayoría de las semillas contiene más de un embrión, la germinación de las semillas frescas parece siempre ser de más del 100 por ciento. La germinación ocurre mejor sobre la superficie del suelo húmedo. Puede tomar de 10 a 120 días para que germinen las

semillas. Las semillas frescas tienen un contenido de humedad del 50 por ciento y no resisten ser secadas.

2.2 Partes del fruto de la pomarroza.

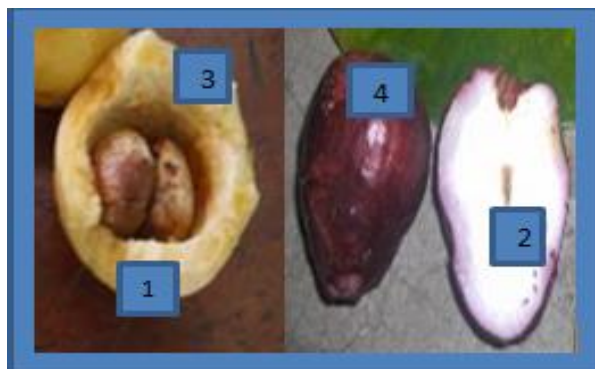


Figura 11. Partes del fruto de pomarroza

1. Semillas poliembriónicas. (De cada semilla germinada saldrán dos o tres plántulas).
2. Drupa carnosa y aromática (Olor característico a rosas).
3. Centro Hueco.
4. Corteza fina aromática (Hasta 2mm de espesor)

2.3 Origen y distribución.

“La pomarroza es nativa de las Indias Orientales y Malaya que se ha cultivado y naturalizado en muchas partes de la India, Ceilán, la antigua Indochina y las islas del Pacífico. Fue introducida en Jamaica en 1762 y llegó a estar bien distribuida en las Bermudas, las Bahamas, las Antillas y, en elevaciones medias y bajas, desde el sur de México hasta Perú. En Guatemala, el árbol se planta como postes vivos o en setos alrededor de las plantaciones de café. Para ello, se poda drásticamente para promover el crecimiento denso. Crece silvestre en abundancia, formando pomarrosales macizos y matorrales, en Puerto Rico, las Islas Vírgenes, Guatemala, Honduras y Panamá. En 1825, ocho árboles jóvenes fueron llevados desde Río de Janeiro a Hawaii por barco, y, en 1853, un buque de guerra de Estados Unidos entregó árboles de aguacate y pomarrosa de América Central a la Isla de Hilo. La manzana de rosa se naturalizó en las islas de Kauai, Molokai, Oahu, Maui y Hawai. En 1893, se informó de que ya se cultivaba en Ghana. Es semi-naturalizado en algunas zonas del oeste de África tropical y en las islas Zanzíbar, Pemba y Reunión. Se cree que se plantó por primera vez en Queensland, Australia, alrededor de 1896. Un árbol obtenido de un vivero de Italia ha crecido y fructificado en la planicie costera de Israel.

La manzana de rosa fue introducida en la Florida, en Jacksonville, antes de 1877, pero, En California, se planta tan al norte como San Francisco, por su follaje y flores ornamentales”. [20]

2.4 Taxonomía

Cuadro 3. Taxonomía de la pomarroza

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Rosidae
Orden	Myrtales
Familia	Myrtaceae
Subfamilia	Myrtoideae
Tribu	Syzygiae
Género	Syzygium
Especie	S. Jambos
Nombre Binomial	Syzygium jambos (L.) ALSTON

Fuente: González, J. “Explicación Etimológica de las Plantas de la Selva”, Flora Digital de la Selva, Organización para Estudios Tropicales, Guatemala, 2007, p. 122

“El nombre genérico Syzygium, viene del griego syzygos: unido, hace referencia a los sépalos, es decir, a las hojas verdes que forman los cálices de sus flores; Jambos, de su nombre nativo. El árbol de Jambu está entre los más representativos de la India, ya que, según la mitología de esas tierras, de él proviene el fruto de la inmortalidad, sus semillas dan oro y de su jugo se formó el río Jambu o Jumna de la India. El epíteto jambos hace referencia precisamente a ese río del norte de la India. Myrtaceae: El nombre de la familia tiene su origen en el género Myrtus L. que significa en griego perfume, aludiendo a su follaje aromático”[21]

Syzygium jambos Alston, es sinónimo de (Eugenia jambos L.; Jambosa jambos Millsp.; Jambosa vulgaris DC.; Caryophyllus jambos Stokes). El término "rose apple" utilizado en Inglés (en francés, pomme rosa, pommier rosa en español, poma rosa, pomarroza, manzana rosa, o manzanita de rosa) es tan ampliamente utilizado que la especie tiene pocos nombres alternativos, aparte de los muchos dialectos locales de África, India, Malasia, Asia sudoriental, las Indias Orientales y Oceanía.

2.5 Valores nutricionales

Cuadro 4. Valor alimenticio por 100 gramos de la porción comestible

Calorías	56
Humedad	84,5-89,1 g
Proteína	0,5-0,7 g
Grasa	0,2-0,3 g
Glúcidos	5,7g
Carbohidratos	14,2 g
Fibra	1,1-1,9 g
Ceniza	0,4-0,44 g
Calcio	29-45,2 mg
Magnesio	4 mg
Fósforo	11,7-30 mg
Hierro	0,45-1,2 mg
Sodio	34,1 mg
Potasio	50 mg
Cobre	0,01 mg
Azufre	13 mg
Cloro	4 mg
Caroteno	123-235 I.U.
Tiamina	0,01-0,19 mg
Riboflavina	0,028-0,05 mg
Niacina	0,521-0,8 mg
Ácido ascórbico	3-37 mg

Fuente:TODD, S. “Manual de Cultivo de Especies Frutales Exóticas”, Fundación Alternativa para el Desarrollo Sostenible del Trópico, (en línea). Bogotá, 2005. p.106

Cuadro 5. Caracterización físico-química de la pomarroza

EXPRESIÓN	RESULTADO	UNIDAD
Humedad	88,75	% en peso
Densidad	1,048	g/cm ³
Sólidos Solubles	11,60	°Brix
Ph	3	
Azúcares Reductores	7,7	% en peso
Azúcares Totales	10,89	% en peso

Nota: Los análisis se realizaron en la Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Químicas.

2.6 Usos de la pomarroza.

2.6.1 Hojas. Luego de algunos estudios y pruebas preliminares se ha determinado que los extractos acuosos de las hojas de la planta *Syzygium jambos* (L.) Alston, tienen un efecto hipoglucemiante e hipotensor, cuando estas son sometidas a fraccionamiento con acetato de etilo. Se utiliza para tratar infecciones de la boca y la garganta, como purgante, contra el catarro.

La decocción de las hojas se aplica a los ojos irritados, también sirve como diurético y expectorante y para el tratamiento del reumatismo. El jugo de la maceración de las hojas se toma como febrífugo. Las hojas en polvo se han frotado en los cuerpos de los pacientes de viruela con efecto refrescante.

Un aceite esencial de color amarillo, destilado a partir de las hojas, contiene, entre otros, 26.84% dl-a-pineno y 23.84% l-limoneno, y puede ser utilizado como fuente de estos elementos para su uso en la industria del perfume.

2.6.2 Pulpa. La pulpa es utilizada para preparar un guisado de jamón con azúcar negra y jengibre. También es usada para hacer mermeladas por su alto contenido en pectinas. En la industria de cosméticos se le da uso en la preparación de cremas.

2.6.3 Fruto. Su fruta contiene hasta 11% de azúcares y es rica en calcio, hierro y niacina, es por ello que se usa como alimento, en jugos, dulces y en almíbar. La razón original por la que la pomarroza se extendió a través de los trópicos fue por sus frutas, las cuales tienen el aroma característico de las rosas y se usan en la confección de jaleas, conservas y ensaladas de fruta.

Al prepararse con jugo de limón se obtiene una excelente bebida.

En algunos países la fruta es considerada como un tónico para el cerebro y el hígado. Una infusión de la fruta actúa como diurético.

En 1849, se anunció en Bengala que los frutos maduros, sin semillas, podían ser destilados 4 veces para hacer un "agua de rosas", igual o mejor al obtenido a partir de los pétalos de la rosa.

2.6.4 Madera. La madera de color rosa claro es usada en la medicina tradicional como antirreumática y estimulante, la extracción con hidro alcohol que da una solución de color rojo es utilizada como afrodisíaco.

“La madera de la pomarrosa, de color marrón claro o cremagrisáceo, es dura y pesada, con una densidad de alrededor de 0.7 g por cm³. Es de una fibra recta, fuerte y resistente se usa más que nada para productos de madera rolliza. En las áreas rurales, la pomarrosa se usa para postes de cerca, para postes de corral y construcción, palillos para secar el tabaco y estacas para siembras de vegetales que necesiten soporte. Se puede rajar con facilidad, y las tablillas se usan para tejer cercas y divisiones, al igual que para cestos”.**[22]**

El duramen es de color rojo oscuro o marrón, fibroso, de grano fino, medio-pesado a pesado, fuerte, y se ha usado para hacer muebles, radios de ruedas, brazos de sillones, costillas para todo tipo de embarcaciones, vigas para la construcción, marcos para instrumentos musicales (violines, guitarras, etc), y cajas de embalaje.

La madera de la pomarrosa es excelente para leña y carbón, los cuales son sus usos principales hoy en día.

2.6.5 Corteza. De la corteza se obtienen colorantes, ya que contienen flavonoides del tipo flavonas. La corteza contiene entre 7-12.4% de tanino y se podría usar en tenerías. La decocción se administra para aliviar el asma, la bronquitis y la ronquera.

2.6.6 Raíces y semillas. Las raíces y las semillas se usan en varios remedios caseros para la epilepsia. Las semillas se emplean contra la diarrea, la disentería y el catarro. En Nicaragua, se ha afirmado que una infusión del polvo de las semillas tostadas es beneficiosa para los diabéticos. En Colombia se afirma que las semillas tienen propiedades anestésicas.

2.6.7 Flores. Las flores son una rica fuente de néctar para las abejas y la miel es de un buen color ámbar.

2.6.8 Árbol. La pomarrosa se planta en muchas regiones como un árbol de ornamento. Las vistosas flores de color crema, su follaje verde oscuro y su tamaño mediano contribuyen a su popularidad.

La pomarrosa es una buena planta para la producción de miel; las abejas producen una miel densa y de color ámbar de manera consistente a partir de su néctar.

2.7 La pomarrosa en el Ecuador

2.7.1 Antecedentes. Desde su lugar de procedencia, la pomarrosa ha sido introducida a los trópicos americanos y en Sur América se encuentra hasta el Perú. No se tiene un dato exacto de cuándo y quién introdujo la fruta en el Ecuador pero se conoce que está presente en nuestro país desde el siglo XX. Se ha expandido por todo el territorio, en lugares húmedos con altitudes bajas, medias y altas sobre el nivel del mar. Resulta una planta invasora de las márgenes de los ríos y arroyos, donde forma bosquecillos densos y desplaza a la vegetación autóctona. El que las semillas puedan flotar y su alta capacidad de germinación ayudan a su capacidad invasora.

“El Ecuador se caracteriza por tener climas cálidos y húmedos, lo que contribuye a que el árbol de pomarrosa se desarrolle y pueda crecer hasta 7,500 pies de altura (2,300 msnm), pero decrece el tamaño de la fruta, con precipitaciones de 1,200 a 6,000 mm por año: no es una especie exigente en suelos, aunque prospera mejor en terrenos frescos con abundante materia orgánica, muy próximo a ríos y quebradas.

Los árboles que crecen en la Costa, Sierra y Amazonía del Ecuador, comienzan a producir frutos a partir del cuarto o quinto año de haber sido cultivados.

Se conoce sobre la existencia de algunas fincas que han establecido cultivos de la fruta en la provincia del Guayas, con el fin de emprender proyectos encaminados al aprovechamiento de la misma, la superficie aproximada de este cultivo es de 50 hectáreas. Al momento esta producción se está colocando en el mercado nacional y a futuro se podría exportarla, sin embargo, no se ha delineado una estrategia ni planificación de exportación” [23]

Así mismo a través de la Misión Técnica Agrícola de Taiwán y el Ministerio de Agricultura y Ganadería, se han establecido cultivos de frutas no tradicionales del Ecuador, tales como la pomarrosa, guayaba, fruta de pan; entre otras a fin de desarrollar técnicas adecuadas de cultivo y obtener frutos de calidad de exportación y útiles para la industria procesadora de frutas.

2.7.2 Zonas cultivadas. La pomarrosa se encuentra distribuida a lo largo de nuestro país en Costa, Sierra, Oriente y por supuesto las Islas Galápagos.

En las Islas Galápagos se encuentra en la Isla Floreana, Isabella, San Cristóbal y Santa Cruz. En estas zonas la pomarrosa empieza a fructificar entre los 3 y 5 años de edad. Las flores y frutos se producen desde diciembre a marzo. Las semillas se dispersan por los humanos, animales y el agua. Muchas plántulas germinan cerca de la planta madre. El árbol crece hasta 15m de altura.

“Tomando como base a la información del inventario realizado por Alvarez & Robayo (2001) y con la colaboración de la comunidad local conocedora de la presencia de las plantas en la zona agrícola; en agosto del 2006 el personal de Botánica de la FCD (Estación Científica Charles Darwin) realizó un nuevo monitoreo para determinar la distribución actual de *S. jambos* en la isla Floreana. Durante los recorridos realizados se pudo detectar la presencia de la pomarrosa en siete fincas: Claudio Cruz, San Miguel, Iván Moreno, Selva Castillo, Jesús Vera, FloreanaWittmer y Anibal Salgado”[24]

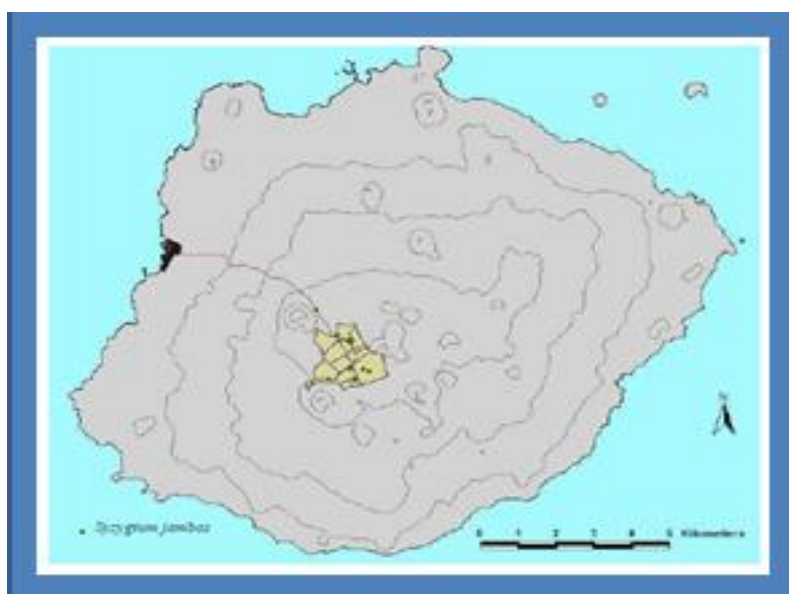


Figura 12. Distribución de *Syzygium jambos* en la isla Floreana, agosto del 2006.

La Pomarrosa fue introducida a la isla Floreana por Conway a finales de los años 1920.

El Ecuador tiene condiciones apropiadas de suelo para desarrollar la pomarrosa, es por ello que en nuestro país puede localizarse en las poblaciones de: Cañar, El Oro, Los Ríos, Manabí, Morona Santiago, Pastaza, Pichincha, así como también la zona tropical de la provincia del Guayas; en Lago Agrio, Sucumbíos, la floración y fructificación de esta fruta se da en los meses de julio, agosto, diciembre, enero y febrero.

A continuación se indica la distribución de la fruta a través del Ecuador:



Figura 13. Zonas cultivadas de pomarrosa en el Ecuador.

2.7.3 Rendimientos del fruto de pomarrosa. En nuestro país, un árbol maduro de pomarrosa produce 5 libras (2 kg) de fruta cada temporada. Los frutos son, por supuesto, muy ligeros de peso, ya que son huecos, pero de todas formas es una producción muy pequeña para un árbol

que ocupa tanto espacio. En la Costa ecuatoriana, los frutos de pomarrosa fructifican cada trimestre, es decir 4 veces por año.

3 METODOLOGÍA

3.1 Diseño experimental

Para realizar la fermentación alcohólica del zumo de pomarrosa, se tomó el diseño factorial con la influencia de tres factores: concentración de sustrato, porcentaje de levadura y pH, de acuerdo a la literatura revisada se tomaron las mejores condiciones de estos parámetros en los que la levadura *Saccharomyces cerevisiae* trabaja para convertir azúcares a etanol.

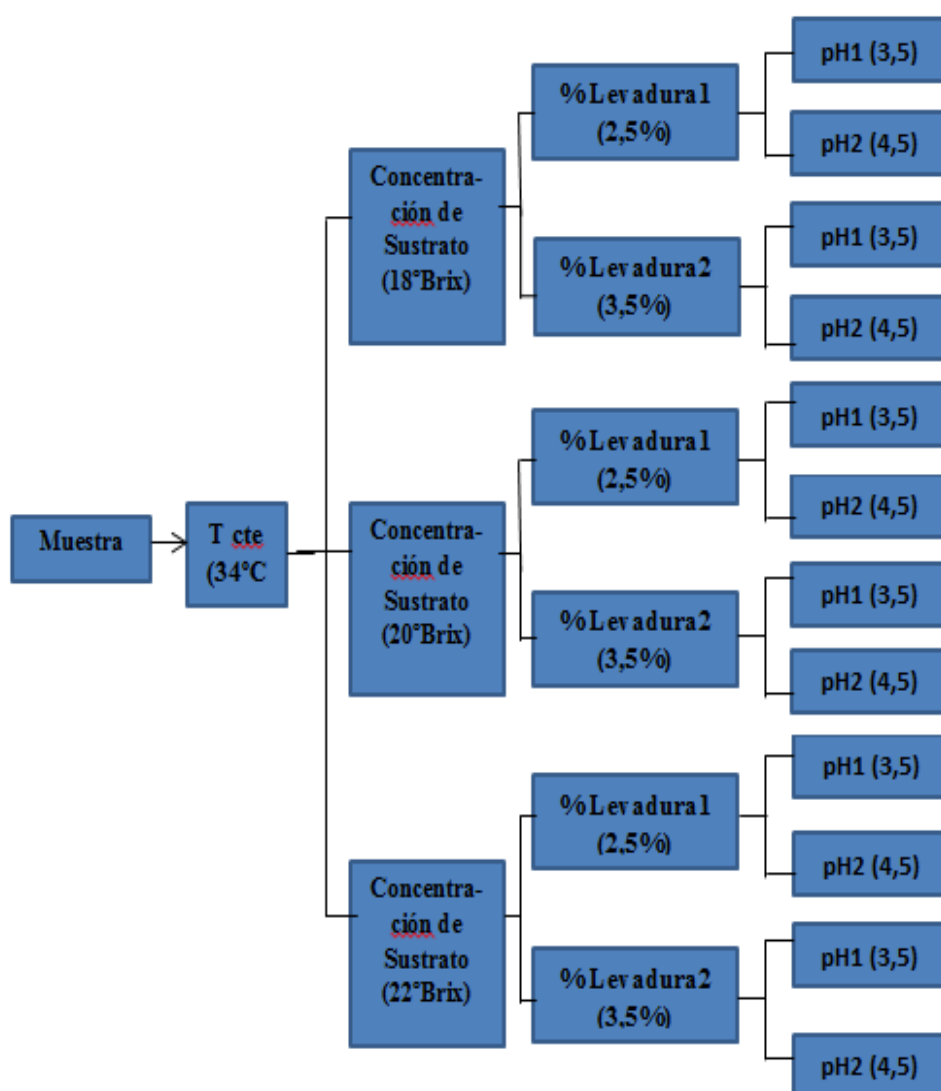


Figura 14. Diseño experimental para la fermentación alcohólica del zumo de pomarrosa

De esta manera se desea determinar la influencia que tienen estos tres factores sobre el rendimiento del etanol obtenido.

El arreglo factorial para este caso es:

$$3 \times 2 \times 2 = 12 \times n$$

En donde: 3 representa los niveles del factor X (Concentración en °Brix).

2: niveles del factor Y (porcentaje de levadura)

2: niveles del factor Z (pH)

12: Número de tratamientos a realizarse

n : Réplicas

3.2 Descripción del proceso experimental

El presente proyecto: Modelación Cinética de la Fermentación Alcohólica del Zumo de Pomarrosa se lo efectuó en recipientes cerrados de manera anaeróbica (Anexo A), en la parte superior de estos recipientes se colocó una tubería para la salida del CO₂, producto de la reacción de la fermentación. El proceso estuvo monitoreado continuamente, por lo que con ayuda de jeringas se pudieron obtener las muestras para evitar el ingreso del aire y afecte el proceso fermentativo.

Para mantener constante la temperatura se utilizó una estufa, con ello se logró un completo control de la misma, ya que su incidencia en el proceso de fermentación es importante. Después de realizar los respectivos experimentos se realizaron pruebas del grado de aceptabilidad, mediante catación, con lo que se pudo determinar la mejor condición de la experimentación, con estas condiciones se realizó un experimento en un Biorreactor de 2L de capacidad, provisto de sensor de temperatura, sensor potenciométrico, y una pantalla para el control de parámetros como la temperatura, pH. El esquema del reactor empleado en el proceso se puede visualizar en el Anexo E.

3.3 Materiales y equipos:

- Balanza Analítica: (R=320g) ($A_p = \pm 0,0001g$)
- Vasos de Precipitación: (V=500ml ; $A_p = \pm 50ml$); (V=50ml $A_p = \pm 10ml$)
- Pipetas (V=25ml $A_p = \pm 0,1ml$) ; (V=5ml $A_p = \pm 0,05ml$)

- Probetas(V=250ml $A_p=\pm 10\text{ml}$) ; (V=100ml ; $A_p = \pm 1\text{ml}$)
- Estufa
- Envases de Plástico de capacidad de 1L.
- Picnómetro (V=25ml)
- Corchos.
- Agitador.
- Jeringas de 20ml.
- Destilador.
- Balón de 500ml
- Termómetro (R: -10-110°C ; $A_p = \pm 1^\circ\text{C}$)
- Centrifugadora.
- Soporte Universal.
- Pinzas para soporte universal
- Potenciómetro (R: 0-14; $A_p = \pm 0,01$)
- Cronómetro ($A_p=\pm 0,01\text{seg}$)
- Papel Filtro
- Filtro membrana de 0,20 y 0,40 μm
- Filtro jeringa 0,20 μm .
- Vidrio Reloj
- Vasos de plástico de 100ml ($A_p=\pm 50\text{ml}$)
- Reverbero.
- Quitasato
- Autoclave T=121°C; P=1,1 bar
- Bomba Centrífuga
- Viales para el HPLC.
- Sonificador para desgasificar muestras.
- Equipo para determinar cantidad de alcohol en las muestras: HPLC.
- Equipo para determinar azúcares reductores (Titulador Karl Fischer)
- Biorreactor: Tanque con capacidad para 2 litros, incluye:
- Sensor Potenciométrico
- Sensor de Temperatura

3.4 Sustancias y reactivos

3.4.1 *Fermentación*

- Zumo de Pomarrosa concentrado a tres diferentes grados brix.
- Ácido Cítrico para regular el pH del medio fermentable.
- Fosfato de Amonio como fuente de Nitrógeno y Fósforo para la levadura.
- Bicarbonato de Sodio para regular el pH

3.4.2 *Determinación de azúcares reductores*

- Ácido Sulfúrico al 10% en volumen (H_2SO_4).
- Yoduro de Potasio al 10% en volumen (KI).
- Tartrato de Sodio Potasiotetrahidratado ($KNaC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$) para preparar reactivo de Felling B.
- Hidróxido de Sodio (NaOH) para preparar reactivo de Felling B.
- Sulfato de Cobre pentahidratado ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$), para preparar reactivo de Felling A
- Tiosulfato de Sodio 0,1 molar ($Na_2S_2O_3$)

3.4.3 *Determinación de etanol*

- Etanol al 98% para preparación de estándares para el HPLC.
- EDTA, para preparación de Fase Móvil en el HPLC.
- Agua tipo I.
- Agua Destilada.

3.5 Procedimiento:

3.5.1 *Fermentación alcohólica*

- Escoger y lavar la fruta.
- Quitar sus semillas.

- Extraer el zumo con ayuda de un extractor de jugos y hervirlo por 5 minutos para evitar proliferación de microorganismos que intervengan en la fermentación.
- Filtrar el zumo para quitar sólidos que estén suspendidos.
- Tomar grados brix inicial.
- Determinar la densidad inicial del zumo.
- Evaporar el zumo para obtener el grado brix requerido (18, 20, 22)°Brix.
- Determinar la densidad del zumo concentrado.
- Se esterilizan los materiales que se van a usar y el zumo a fermentar con ayuda de un autoclave a una temperatura de 110°C.
- Se regula el pH del zumo a 3,5 y 4,5.
- Una vez determinada la cantidad de levadura a usar, se la activa en el 20% del zumo a una temperatura de 28°C con constante agitación, y se la deja en la estufa por un tiempo de 45 minutos. Ver Anexo D.1 y D.2.
- En el 80% restante del zumo se coloca Fosfato de amonio (0,5g por cada litro), como fuente de nitrógeno y fósforo para la levadura y se deja en refrigeración.
- Cuando la levadura ya se ha activado se mezclan las dos partes del zumo y se lo coloca en el reactor construido manualmente, se tapa herméticamente y se lleva a la estufa a una temperatura constante de 34°C.
- Se toman muestras con la ayuda de una jeringa cada cierto tiempo para monitoreo de azúcares reductores y cantidad de etanol.
- El proceso de fermentación se para cuando los grados brix o la cantidad de etanol permanecen constantes.
- Posterior a la fermentación se realiza una destilación para concentrar el grado alcohólico. Ver montaje de equipo de destilación en la figura del Anexo F.

3.5.2 *Determinación de etanol*

- Se preparan estándares de etanol para realizar la curva de calibración en el equipo HPLC, mínimo 5 estándares.
- Las condiciones de trabajo para determinar el etanol en el HPLC son: Columna SUGAR PAK temperatura de la columna: 80°C; temperatura del detector: 40°C; Flujo 1,0ml; fase móvil: Solución de EDTA 0,0001M. El HPLC que se utilizó puede observarse en la figura del Anexo B.
- Las muestras tomadas de la fermentación se las filtra al vacío para retener la cantidad de levadura presente en las mismas.

- Se realiza una segunda filtración con filtro membrana de 0,20 o 0,40 μm para purificar la muestra antes de su ingreso al HPLC.
- Se procede a desgasificar la muestra mediante ayuda de un sonicador para evitar formación de burbujas en el equipo.
- Se inyectan las muestras en los viales especiales para HPLC.
- Se colocan los viales en el carrusel del equipo y se procede a realizar las corridas.
- Durante las corridas hay que verificar que la presión del equipo sea la correcta y no exista una sobrepresión.
- Una vez terminada la corrida de las muestras se procede a procesar datos y obtener resultados, los mismos que se obtienen en mg/ml . Uno de los cromatogramas obtenidos puede visualizarse en el anexo K.1 y K.2.

3.5.3 *Determinación de azúcares reductores*

- Se diluyen las muestras que se han tomado de la fermentación a 1°Brix.
- Se agregan 2 ml de las soluciones diluidas a un Erlenmeyer de 250 ml, se lo realiza por duplicado.
- A continuación se agregan en el siguiente orden: 5 ml de Felling A, 5 ml de Felling B, y 20 ml de agua.
- Someter a calentamiento y dejar exactamente 2 min a ebullición, retirar del reverbero y dejar enfriar a temperatura ambiente.
- Colocar las muestras en los vasos de plástico exclusivos para determinar azúcares reductores.
- Adicionar a continuación y en este orden: 10 ml de ácido sulfúrico y 10 ml de yoduro de potasio y tapar inmediatamente. Ver Anexo C.1.
- Colocar la muestra en el titulador Karl Fischer (Anexo C.2) y programarlo para que titule con la solución de Tiosulfato de Sodio.
- Observar el cambio de potencial y registrar los resultados que se observan en la pantalla.

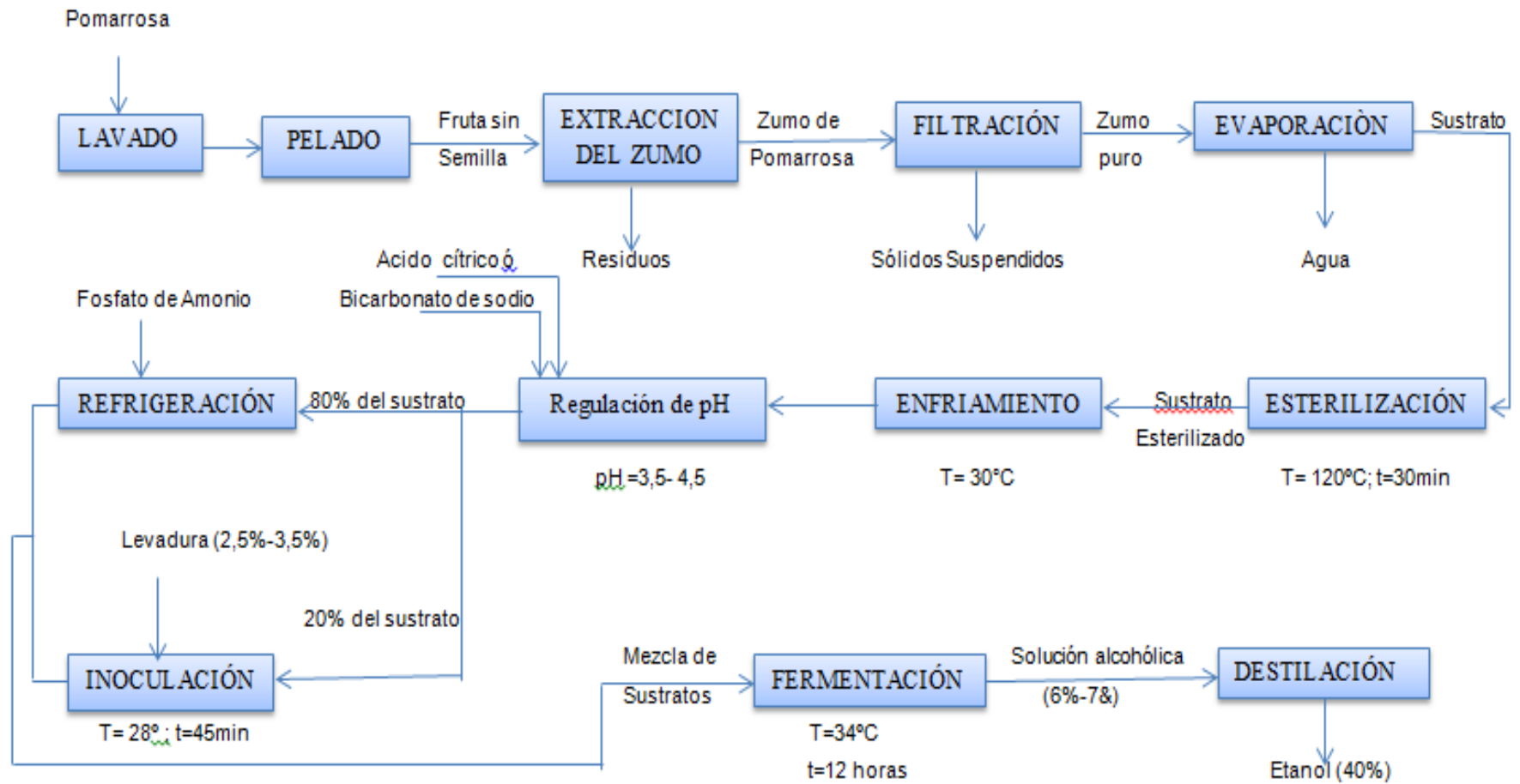
3.5.4 *Determinación del crecimiento microbiano*

- Tomar 10 ml del mosto fermentado.
- Centrifugar y filtrar las muestras.
- Previo a la filtración pesar el papel filtro.
- Secar las muestras en la estufa hasta que el peso de la levadura más el papel sea constante.
- Por diferencia de pesos se obtiene el peso final.

3.5.5 Evaluación del grado de aceptabilidad.

Se tomaron dos grupos de 10 personas cada grupo; uno masculino y otro femenino. Para realizar el ensayo de catación se siguió los lineamientos de la Norma INEN 350 que se encuentra en el Anexo J.

3.6 Diagrama de flujo del proceso experimental.



4 DATOS EXPERIMENTALES

Los datos experimentales se obtuvieron para los siguientes casos:

Tabla 1. Condiciones de trabajo para la obtención de etanol

CASOS	Grados Brix	Porcentaje de Levadura	pH
A	18	2,5	3,5
B			4,5
C		3,5	3,5
D			4,5
E	20	2,5	3,5
F			4,5
G		3,5	3,5
H			4,5
I	22	2,5	3,5
J			4,5
K		3,5	3,5
L			4,5

4.1 Datos del monitoreo de formación de etanol mediante HPLC.

4.1.1 Datos obtenidos de los reactores contruidos manualmente para cada caso.

Condiciones de trabajo Casos: A,B,C,D:

Volumen utilizado:1000 ml

Densidad del zumo: 1,074144g/ml

Temperatura: 34°C

Tabla 2. Datos del etanol formado para los casos A,B,C,D

N	t (h)	CASOS	A	B	A	B	C	D	C	D
		Lecturas	Etanol (mg/ml)		Etanol (%V/V)		Etanol (mg/ml)		Etanol (%V/V)	
1	0	Xi	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1	X1	13,243	10,231	1,678	1,297	14,762	17,273	1,871	2,189
		X2	14,234	6,992	1,804	0,886	17,331	19,191	2,197	2,432
		Xp	13,7385	8,6115	1,741	1,091	16,0465	18,232	2,034	2,311
3	2	X1	14,345	13,284	1,818	1,684	15,387	18,265	1,9502	2,315
		X2	15,791	11,302	2,001	1,432	18,006	19,351	2,282	2,453
		Xp	15,068	12,293	1,910	1,558	16,6965	18,808	2,116	2,384
4	4	X1	15,874	18,076	2,012	2,291	17,322	24,982	2,1954	3,166
		X2	15,945	19,624	2,021	2,487	24,988	27,49	3,167	3,484
		Xp	15,9095	18,85	2,016	2,389	21,155	26,236	2,681	3,325
5	6	X1	18,768	24,674	2,379	3,127	20,832	35,425	2,6403	4,490
		X2	19,141	33,342	2,426	4,226	25,109	40,113	3,182	5,084
		Xp	18,9545	29,008	2,402	3,677	22,9705	37,769	2,911	4,787
6	8	X1	20,546	30,934	2,604	3,921	29,372	46,839	3,7227	5,937
		X2	20,446	41,324	2,591	5,238	38,772	49,65	4,914	6,293
		Xp	20,496	36,129	2,598	4,579	34,072	48,2445	4,318	6,115
7	11	X1	38,654	62,997	4,899	7,984	39,637	53,983	5,0237	6,842
		X2	37,345	63,099	4,733	7,997	44,009	54,082	5,578	6,854
		Xp	37,9995	63,048	4,816	7,991	41,823	54,0325	5,301	6,848
8	12	X1	38,723	63,042	4,908	7,990	39,873	54,003	5,0536	6,844
		X2	37,534	63,803	4,757	8,087	44,128	54,243	5,593	6,875
		Xp	38,1285	63,4225	4,833	8,038	42,0005	54,123	5,323	6,860
9	MD	X1	136,82	384,703	17,341	48,758	168,933	220,13	21,4110	27,900
		X2	132,54	392,123	16,798	49,699	180,243	244,653	22,844	31,008
		Xp	134,68	388,413	17,069	49,229	174,588	232,392	22,128	29,454

Condiciones de trabajo para los casos E,F,G,H: Volumen utilizado: 1000 ml

Densidad del zumo: 1,082984g/ml

Temperatura: 34°C

Tabla 3. Datos del etanol formado para los casos E,F,G,H

N	t (h)	CASOS	E	F	E	F	G	H	G	H
		Lecturas	Etanol (mg/ml)		Etanol (%V/V)		Etanol (mg/ml)		Etanol (%V/V)	
1	0	Xi	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1	X1	3,05	8,75	0,387	1,109	12,345	22,511	1,565	2,853
		X2	3,12	8,643	0,395	1,095	13,245	26,732	1,679	3,388
		Xp	3,085	8,6965	0,391	1,102	12,795	24,6215	1,622	3,121
3	2	X1	4,71	9,54	0,597	1,209	16,321	22,287	2,069	2,825
		X2	4,69	9,76	0,594	1,237	15,464	30,181	1,960	3,825
		Xp	4,7	9,65	0,596	1,223	15,8925	26,234	2,014	3,325
4	4	X1	6,35	15,12	0,805	1,916	15,652	29,291	1,984	3,712
		X2	6,423	14,856	0,814	1,883	16,373	31,635	2,075	4,010
		Xp	6,3865	14,988	0,809	1,900	16,0125	30,463	2,029	3,861
5	6	X1	11,93	23,73	1,512	3,008	20,734	31,438	2,628	3,985
		X2	11,502	24,763	1,458	3,139	20,697	41,559	2,623	5,267
		Xp	11,716	24,2465	1,485	3,073	20,7155	36,4985	2,626	4,626
6	8	X1	16,36	34,44	2,074	4,365	32,987	38,107	4,181	4,830
		X2	15,685	43,597	1,988	5,526	30,258	54,267	3,835	6,878
		Xp	16,0225	39,0185	2,031	4,945	31,6225	46,187	4,008	5,854
7	11	X1	55,86	40,34	7,080	5,113	39,463	76,345	5,002	9,676
		X2	54,097	50,59	6,856	6,412	40,654	72,75	5,153	9,221
		Xp	54,9785	45,465	6,968	5,762	40,0585	74,5475	5,077	9,448
8	12	X1	56,004	40,82	7,098	5,174	39,532	76,503	5,010	9,696
		X2	54,103	50,621	6,857	6,416	40,7	73,474	5,158	9,312
		Xp	55,0535	45,7205	6,978	5,795	40,116	74,9885	5,084	9,504
9	MD	X1	240,84	179,947	30,525	22,807	162,39	432,157	20,582	54,773
		X2	233,221	208,334	29,559	26,405	170,63	412,645	21,626	52,300
		Xp	237,031	194,141	30,042	24,606	166,51	422,401	21,104	53,537

Condiciones de trabajo para los casos I,J,K,L: Volumen utilizado: 1000ml

Densidad del zumo: 1,091954g/ml

Temperatura: 34°C

Tabla 4. Datos del etanol formado para los casos I,J,K,L

N	t (h)	CASOS	I	J	I	J	K	L	K	L
		Lecturas	Etanol (mg/ml)		Etanol (%V/V)		Etanol (mg/ml)		Etanol (%V/V)	
1	0	Xi	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1	X1	17,319	21,114	2,195	2,676	6,438	25,674	0,816	3,254
		X2	17,301	24,359	2,193	3,087	13,655	25,736	1,731	3,262
		Xp	17,31	22,7365	2,194	2,882	10,0465	25,705	1,273	3,258
3	2	X1	22,567	22,603	2,860	2,865	8,517	36,657	1,079	4,646
		X2	21,606	26,18	2,738	3,318	21,112	28,155	2,676	3,568
		Xp	22,0865	24,3915	2,799	3,091	14,8145	32,406	1,878	4,107
4	4	X1	36,547	23,581	4,632	2,989	12,535	48,395	1,589	6,134
		X2	29,196	31,057	3,700	3,936	26,85	32,218	3,403	4,083
		Xp	32,872	27,319	4,166	3,462	19,6925	40,3065	2,496	5,109
5	6	X1	46,546	24,015	5,899	3,044	16,438	56,298	2,083	7,135
		X2	31,241	31,726	3,960	4,021	33,042	39,705	4,188	5,032
		Xp	38,8935	27,8705	4,929	3,532	24,74	48,0015	3,136	6,084
6	8	X1	58,727	38,354	7,443	4,861	18,661	68,81	2,365	8,721
		X2	36,28	32,766	4,598	4,153	42,377	42,267	5,371	5,357
		Xp	47,5035	35,56	6,021	4,507	30,519	55,5385	3,868	7,039
7	11	X1	69,53	67,534	8,812	8,559	38,386	108,643	4,865	13,770
		X2	64,121	64,967	8,127	8,234	57,745	64,498	7,319	8,175
		Xp	66,8255	66,2505	8,470	8,397	48,0655	86,5705	6,092	10,972
8	12	X1	69,62	67,806	8,824	8,594	38,678	108,667	4,902	13,773
		X2	64,293	65,8	8,149	8,340	57,998	64,498	7,351	8,175
		Xp	66,9565	66,803	8,486	8,467	48,338	86,5825	6,126	10,974
9	MD	X1	410,536	402,13	52,032	50,967	140,76	538,78	17,840	40,26
		X2	398,567	395,265	50,515	50,097	157,339	242,707	19,942	30,761
		Xp	404,552	398,700	51,274	50,532	149,050	390,744	18,891	35,511

4.1.2 Datos del etanol obtenido del experimento realizado en el biorreactor. Los datos tabulados en la siguiente tabla se obtuvieron del experimento realizado en el biorreactor para la mejor condición determinada mediante catación: CASO G: 20°Brix; 3,5% de levadura; pH 3,5. Condiciones de Trabajo: V=2000ml, Densidad del zumo = 1,082984g, T=35°C.

Tabla 5. Datos del etanol obtenido del biorreactor para el CASO G

N	t (h)		Etanol (mg/ml)	Etanol (%V/V)
1	0	Xp	0	0
2	1	X1	2,738	0,347
		X2	2,688	0,341
		Xp	2,713	0,344
3	2	X1	4,976	0,631
		X2	5,062	0,642
		Xp	5,019	0,636
4	4	X1	8,453	1,071
		X2	7,511	0,952
		Xp	7,982	1,012
5	6	X1	38,62	4,895
		X2	40,14	5,087
		Xp	39,38	4,991
6	8	X1	59,43	7,532
		X2	46,65	5,913
		Xp	53,04	6,722
7	11	X1	70,06	8,880
		X2	64,67	8,196
		Xp	67,36	8,538
8	12	X1	72,13	9,142
		X2	65,77	8,336
		Xp	68,95	8,739
9	MD	X1	524,45	66,47
		X2	467,88	59,3
		Xp	505,165	62,885

4.2 Datos del monitoreo de azúcares reductores

4.2.1 Datos de azúcares reductores obtenidos de los reactores contruidos manualmente.

Tabla 6. Porcentaje de azúcares reductores para los casos: A,B,C,D

N	t (h)		Azúcares (%P/P)			
		CASOS	A	B	C	D
1	0	X1	0,581	0,683	0,661	0,735
		X2	0,629	0,739	0,677	0,709
		Xp	0,605	0,711	0,669	0,722
2	1	X1	0,544	0,598	0,586	0,685
		X2	0,530	0,628	0,582	0,669
		Xp	0,537	0,613	0,584	0,677
3	2	X1	0,444	0,550	0,526	0,643
		X2	0,512	0,542	0,532	0,637
		Xp	0,478	0,546	0,529	0,640
4	4	X1	0,400	0,462	0,401	0,581
		X2	0,360	0,450	0,445	0,599
		Xp	0,380	0,456	0,423	0,590
5	6	X1	0,324	0,394	0,315	0,538
		X2	0,296	0,364	0,359	0,560
		Xp	0,310	0,379	0,337	0,549
6	8	X1	0,241	0,330	0,285	0,492
		X2	0,291	0,292	0,295	0,528
		Xp	0,266	0,311	0,290	0,510
7	11	X1	0,208	0,261	0,218	0,461
		X2	0,186	0,237	0,210	0,443
		Xp	0,197	0,249	0,214	0,452
8	12	X1	0,186	0,246	0,199	0,435
		X2	0,180	0,228	0,207	0,443
		Xp	0,183	0,237	0,203	0,439

Tabla 7. Porcentaje de azúcares reductores para los casos: E,F,G,H

N	t (h)		Azúcares (%P/P)			
		CASOS	E	F	G	H
1	0	X1	0,790	0,569	0,599	0,825
		X2	0,822	0,541	0,625	0,827
		Xp	0,806	0,555	0,612	0,826
2	1	X1	0,665	0,480	0,598	0,806
		X2	0,683	0,476	0,620	0,824
		Xp	0,674	0,478	0,528	0,815
3	2	X1	0,612	0,431	0,456	0,632
		X2	0,636	0,453	0,472	0,658
		Xp	0,624	0,442	0,464	0,645
4	4	X1	0,497	0,372	0,326	0,567
		X2	0,539	0,386	0,396	0,547
		Xp	0,518	0,379	0,361	0,557
5	6	X1	0,450	0,316	0,274	0,532
		X2	0,430	0,338	0,286	0,456
		Xp	0,440	0,327	0,280	0,494
6	8	X1	0,361	0,284	0,228	0,460
		X2	0,353	0,270	0,224	0,448
		Xp	0,357	0,277	0,226	0,454
7	11	X1	0,318	0,270	0,187	0,321
		X2	0,336	0,226	0,211	0,301
		Xp	0,327	0,248	0,199	0,311
8	12	X1	0,316	0,225	0,184	0,319
		X2	0,322	0,233	0,200	0,301
		Xp	0,319	0,229	0,192	0,310

Tabla 8. Porcentaje de azúcares reductores para los casos I,J,K,L

N	t (h)		Azúcares (%P/P)			
		CASOS	I	J	K	L
1	0	X1	0,844	0,851	0,881	0,944
		X2	0,874	0,833	0,931	0,926
		Xp	0,859	0,842	0,906	0,935
2	1	X1	0,761	0,793	0,861	0,792
		X2	0,807	0,773	0,833	0,776
		Xp	0,748	0,783	0,847	0,784
3	2	X1	0,651	0,709	0,680	0,702
		X2	0,675	0,675	0,710	0,684
		Xp	0,663	0,692	0,695	0,693
4	4	X1	0,573	0,602	0,546	0,510
		X2	0,559	0,588	0,560	0,532
		Xp	0,566	0,595	0,553	0,521
5	6	X1	0,482	0,536	0,494	0,447
		X2	0,498	0,514	0,472	0,451
		Xp	0,490	0,525	0,483	0,449
6	8	X1	0,436	0,452	0,414	0,369
		X2	0,404	0,446	0,400	0,381
		Xp	0,420	0,449	0,407	0,375
7	11	X1	0,361	0,427	0,273	0,288
		X2	0,335	0,419	0,295	0,310
		Xp	0,348	0,423	0,284	0,299
8	12	X1	0,350	0,424	0,288	0,280
		X2	0,332	0,406	0,274	0,306
		Xp	0,341	0,415	0,281	0,293

4.2.2 Datos del monitoreo de azúcares reductores para la mejor condición realizada en el biorreactor.

Tabla 9. Datos de azúcares reductores para el biorreactor: CASO G

N	t (h)		Azúcares (%P/P)
1	0	X1	0,5730
		X2	0,5712
		Xp	0,5721
2	1	X1	0,4876
		X2	0,4879
		Xp	0,4878
3	2	X1	0,4288
		X2	0,4318
		Xp	0,4303
4	4	X1	0,3514
		X2	0,3556
		Xp	0,3535
5	6	X1	0,2865
		X2	0,2881
		Xp	0,2873
6	8	X1	0,2272
		X2	0,2304
		Xp	0,2288
7	11	X1	0,1802
		X2	0,1714
		Xp	0,1758
8	12	X1	0,1661
		X2	0,1647
		Xp	0,1654

4.3 Datos del crecimiento microbiano en función del tiempo.

4.3.1 Datos del crecimiento microbiano determinados de los reactores contruidos manualmente para cada caso.

Tabla 10. Crecimiento microbiano para los casos: A,B,C,D

Crecimiento microbiano (g/ml)					
t, (h)	CASOS	A	B	C	D
0	X1	0,0531	0,0400	0,1048	0,0842
	X2	0,0789	0,0424	0,1020	0,0898
	Xp	0,0660	0,0412	0,1034	0,087
1	X1	0,0721	0,0410	0,1091	0,0909
	X2	0,0809	0,0436	0,1217	0,0931
	Xp	0,0765	0,0423	0,1154	0,092
2	X1	0,0834	0,0414	0,1254	0,1076
	X2	0,0810	0,0450	0,1298	0,1058
	Xp	0,0822	0,0432	0,1276	0,1067
4	X1	0,0912	0,0452	0,1360	0,1136
	X2	0,0960	0,0450	0,1406	0,1150
	Xp	0,0936	0,0451	0,1383	0,1143
6	X1	0,1147	0,0474	0,1422	0,1231
	X2	0,0993	0,0458	0,1442	0,1281
	Xp	0,1070	0,0466	0,1432	0,1256
8	X1	0,1175	0,0493	0,1745	0,1379
	X2	0,1199	0,0467	0,1723	0,1351
	Xp	0,1187	0,048	0,1734	0,1365
11	X1	0,1305	0,0513	0,1821	0,1450
	X2	0,1225	0,0473	0,1871	0,1392
	Xp	0,1265	0,0493	0,1846	0,1421
12	X1	0,1320	0,0515	0,1877	0,1477
	X2	0,1390	0,0481	0,1909	0,1453
	Xp	0,1355	0,0498	0,1893	0,1465

Tabla 11. Crecimiento microbiano para los casos E,F,G,H

Crecimiento microbiano en g/ml					
t (h)	CASOS	E	F	G	H
0	X1	0,0096	0,0111	0,0283	0,0354
	X2	0,0122	0,0157	0,0247	0,0382
	Xp	0,0109	0,0134	0,0265	0,0368
1	X1	0,0105	0,0146	0,0290	0,0361
	X2	0,0131	0,0160	0,0254	0,0385
	Xp	0,0118	0,0153	0,0272	0,0373
2	X1	0,0122	0,0179	0,0295	0,0419
	X2	0,0136	0,0175	0,0279	0,0439
	Xp	0,0129	0,0177	0,0287	0,0429
4	X1	0,0131	0,0210	0,0302	0,0526
	X2	0,0139	0,0226	0,0294	0,0562
	Xp	0,0135	0,0218	0,0298	0,0544
6	X1	0,0133	0,0222	0,0380	0,0675
	X2	0,0159	0,0230	0,0370	0,0681
	Xp	0,0146	0,0226	0,0375	0,0678
8	X1	0,0156	0,0246	0,0390	0,0785
	X2	0,0172	0,0232	0,0398	0,0805
	Xp	0,0164	0,0239	0,0394	0,0795
11	X1	0,0170	0,0251	0,0410	0,0860
	X2	0,0186	0,0265	0,0440	0,0886
	Xp	0,0178	0,0258	0,0425	0,0873
12	X1	0,0174	0,0294	0,044	0,0954
	X2	0,0188	0,0270	0,042	0,0972
	Xp	0,0181	0,0282	0,0430	0,0963

Tabla 12. Crecimiento microbiano para los casos: I,J,K,L

Crecimiento microbiano en g/ml					
t, (h)	CASOS	I	J	K	L
0	X1	0,0672	0,186	0,0852	0,0634
	X2	0,0632	0,176	0,0844	0,0656
	Xp	0,0652	0,181	0,0848	0,0645
1	X1	0,0740	0,199	0,0860	0,0701
	X2	0,0708	0,189	0,0876	0,0741
	Xp	0,0724	0,194	0,0868	0,0721
2	X1	0,0868	0,201	0,910	0,0817
	X2	0,0842	0,193	0,900	0,0829
	Xp	0,0855	0,197	0,905	0,0823
4	X1	0,0914	0,203	0,1122	0,0956
	X2	0,0956	0,198	0,1086	0,0978
	Xp	0,0935	0,199	0,1104	0,0967
6	X1	0,1050	0,224	0,1287	0,1050
	X2	0,1084	0,220	0,1239	0,1080
	Xp	0,1067	0,222	0,1263	0,1065
8	X1	0,1122	0,232	0,1375	0,1109
	X2	0,1186	0,224	0,1345	0,1139
	Xp	0,1154	0,228	0,136	0,1124
11	X1	0,1243	0,247	0,1501	0,1144
	X2	0,1285	0,231	0,1451	0,1146
	Xp	0,1264	0,239	0,1476	0,1145
12	X1	0,1252	0,254	0,1548	0,1189
	X2	0,1302	0,242	0,1498	0,1205
	Xp	0,1277	0,248	0,1523	0,1197

4.3.2 Datos del crecimiento microbiano tomados del experimento realizado en el Biorreactor.

Tabla 13. Crecimiento microbiano monitoreado en el biorreactor, CASO G

N	t (h)		Biomasa (g/ml)
1	0	X1	0,0812
		X2	0,0836
		Xp	0,0824
2	1	X1	0,0840
		X2	0,0852
		Xp	0,0846
3	2	X1	0,0857
		X2	0,0871
		Xp	0,0864
4	4	X1	0,0894
		X2	0,0910
		Xp	0,0902
5	6	X1	0,0920
		X2	0,0944
		Xp	0,0932
6	8	X1	0,0949
		X2	0,0971
		Xp	0,096
7	11	X1	0,0981
		X2	0,0991
		Xp	0,0986
8	12	X1	0,0993
		X2	0,0999
		Xp	0,0996

4.4 Datos de las Pruebas de Catación.

Para realizar las pruebas de catación se tomó un puntaje del 1 al 5, en donde: 1= Malo; 2 = Regular; 3 = Bueno; 4 = Muy Bueno; 5 = Excelente

Tabla 14. Datos de las pruebas de catación: grupo masculino

Catador Muestra	1			2			3			4			5			6			7			8			9			10		
	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S
A	4	4	2	4	4	5	3	3	2	4	4	4	3	4	5	3	4	3	4	4	5	4	5	4	3	3	5	4	4	3
B	4	3	5	4	3	5	2	2	4	4	4	4	3	4	5	4	5	4	4	3	5	4	5	4	3	3	5	2	3	3
C	4	2	3	4	4	3	2	2	3	2	3	4	3	4	5	3	5	3	5	4	5	3	5	5	3	4	4	2	4	4
D	3	3	3	2	3	4	3	3	3	3	3	5	3	4	5	3	4	4	4	4	4	3	5	5	2	4	4	3	4	4
E	2	3	2	3	3	4	3	4	4	5	4	3	4	4	5	3	5	4	4	4	4	5	5	4	3	4	5	3	4	4
F	4	4	3	3	4	4	4	3	4	2	3	4	3	4	4	3	4	3	4	5	4	5	3	5	3	3	3	4	4	3
G	3	4	5	3	4	4	3	2	5	3	4	5	4	5	4	3	4	4	5	5	5	2	3	5	4	2	4	4	5	5
H	4	2	2	4	3	3	2	3	3	4	3	5	5	4	5	3	3	4	3	5	5	4	5	3	4	2	3	3	5	3
I	3	3	3	4	3	2	4	4	5	4	4	3	5	4	5	4	4	2	4	3	4	4	4	5	4	3	4	4	3	4
J	4	4	3	4	4	3	5	4	3	5	3	4	4	4	4	4	4	2	5	4	3	4	5	5	5	3	5	5	4	5
K	2	3	3	4	3	4	4	4	3	5	4	4	5	5	5	5	5	4	4	4	4	5	5	3	4	4	5	5	4	3
L	3	4	4	4	3	4	4	4	4	5	4	5	4	4	5	5	5	3	5	4	5	5	4	5	5	4	5	5	4	4

Tabla 15. Datos para pruebas de catación: grupo femenino

Catador Muestra	1			2			3			4			5			6			7			8			9			10		
	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S
A	4	3	2	3	4	3	3	4	2	3	4	3	4	3	4	3	4	3	4	3	3	3	2	2	2	4	4	3	3	2
B	5	4	5	3	3	4	3	4	4	2	4	3	4	3	4	3	4	2	4	3	3	3	2	2	2	4	4	3	4	5
C	4	3	3	3	3	3	3	4	4	2	4	4	4	3	4	3	3	2	4	3	4	4	3	3	2	4	3	3	3	4
D	4	3	3	3	3	3	2	4	4	3	5	4	4	4	2	3	3	2	3	4	4	4	3	3	3	4	3	3	3	4
E	3	2	2	4	3	4	2	4	3	3	5	4	4	4	2	4	4	4	4	4	4	2	3	3	3	4	3	3	3	3
F	4	4	3	4	4	4	3	4	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	4	5	2	3	4	4	3	3	3	4	3
G	3	4	5	4	5	5	3	4	4	4	4	2	4	4	5	4	5	3	4	5	5	2	4	4	4	3	4	3	4	4
H	4	2	2	3	4	5	4	4	4	4	4	2	4	3	5	4	5	3	4	5	3	4	4	4	4	3	4	3	2	3
I	4	4	3	3	3	5	4	4	4	5	4	4	4	3	5	5	4	5	5	4	4	4	4	5	4	4	4	5	4	4
J	3	5	3	4	4	3	5	4	4	5	4	4	5	3	4	5	4	3	5	4	3	4	4	5	4	4	4	5	5	4
K	3	3	3	5	5	5	5	4	5	5	5	2	5	5	3	5	5	4	5	4	5	5	4	4	4	5	4	5	3	4
L	4	4	4	5	3	3	5	4	4	5	5	3	5	4	3	5	3	4	5	4	4	5	4	4	4	5	4	5	4	4

En donde C=Color, O=Olor y S=Sabor.

5 CÁLCULOS Y RESULTADOS

5.1 Cálculos previos a la experimentación.

Nota: Todos los cálculos se realizaron haciendo referencia a la mejor condición determinada por catación: CASO G.

5.1.1 Cálculo de la densidad inicial del zumo de la pomarrosa por el método del picnómetro.

$$\rho_i = \frac{M3-M1}{M2-M1} \quad (26)$$

En donde: ρ_i : Densidad del zumo de pomarrosa

M1: Peso del picnómetro vacío

M2: Peso del picnómetro + agua destilada

M3: Peso del picnómetro + zumo de pomarrosa.

$$\rho_i = \frac{47,6098 - 21,5858}{47,0076 - 21,5858}$$

$$\rho_i = 1,02369 \text{ g/ml}$$

5.1.2 Corrección de los grados brix del mosto por evaporación.

5.1.2.1 Cálculo de la densidad final del zumo

$$\rho_f = \left\{ \frac{{}^{\circ}\text{Brix}}{\left(258,6 - \left(\frac{{}^{\circ}\text{Brix}}{258,2}\right) * 227,1\right)} \right\} + 1 \quad (27)$$

$$\rho_f = \left\{ \frac{20}{\left(258,6 - \left(\frac{20}{258,2} \right) * 227,1 \right)} \right\} + 1$$

$$\rho_f = 1,082984 \text{ g/ml}$$

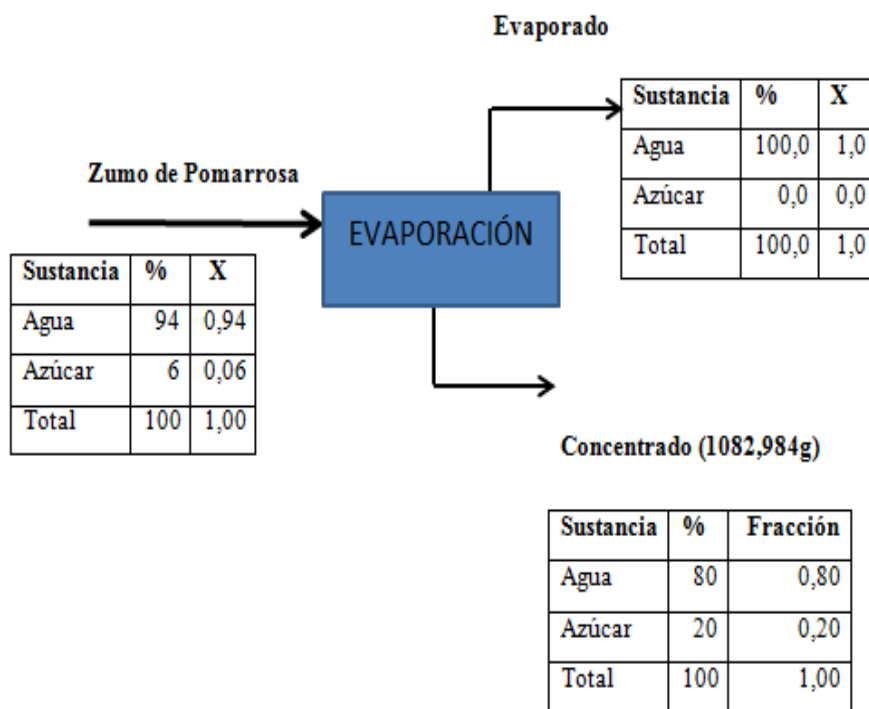
5.1.2.2 Cálculo de la masa del concentrado.

$$m = \rho * V \quad (28)$$

$$m = 1,082984 \frac{\text{g}}{\text{ml}} * 1000 \text{ ml}$$

$$m = 1082,984 \text{ g de zumo concentrado}$$

5.1.2.3 Balance de masa para determinar el volumen inicial necesario para evaporar y concentrar el zumo a 20°Brix.



$$Z = E + C \quad \text{Balance Total} \quad 9$$

$$(1) \text{Agua} Z * X_{H_2O} = E * X_{H_2O} + C * X_{H_2O} \quad 10$$

$$(2) \text{Azúcar} Z * X_{\text{Azúcar}} = E * X_{\text{Azúcar}} + C * X_{\text{Azúcar}} \quad 11$$

$$(1) Z * 0,94 = E * 1 + (1082,984 * 0,80)$$

$$(2) Z * 0,06 = E * 0 + (1082,984 * 0,20)$$

$$\text{De (2):} \quad Z = \frac{216,597}{0,06} = 3609,947 \text{ g}$$

Transformando la masa a volumen:

$$V = \frac{m}{\delta} \quad (29)$$

$$V = \frac{3609,947 \text{ g}}{1,02357 \text{ g/ml}}$$

$$V = 3526,8 \text{ ml}$$

Quiere decir que se necesitan 3527 ml de zumo de fruta a una concentración de 6,00°Brix para obtener un volumen de 1000 ml de zumo concentrado a 20,00°Brix.

Tabla 16. Volumen necesario para concentrar el zumo de la pomarrosa

CASO	°Brix inicial	Volumen inicial (ml)	°Brix final	Volumen final (ml)
A	8,00	2250	18°	1000
B	9,25	2016		
C	7,25	2592		
D	8,75	2135		
E	9,00	2323	20°	1000
F	7,75	2693		
G	6,00	3527		
H	6,00	3526		
I	8,00	2910	22°	1000
J	6,25	3751		
K	4,75	4965		
L	7,00	3339		
Biorreactor	9,00	4277	20°	2000

5.1.2.4 Cálculo de la cantidad de levadura necesaria para preparar el mosto

$$m_{levad} = \frac{1082,984 g de Solución * 3,5\% de levadura}{100\%}$$

$$m_{levad} = 37,904 g de levadura$$

Esta cantidad de levadura se inocula en el 20% del zumo concentrado.

5.1.2.5 Cálculo de la cantidad de fosfato de amonio necesaria para la fermentación.

$$\frac{0,5 g de NH_4PO_4}{1000 g de solución} * 1082,984 g de solución = 0,5414 g de NH_4PO_4$$

5.2 Cálculo del porcentaje de azúcares reductores presentes en el zumo.

Cálculo para la muestra G, tiempo cero:

5.2.1 Cálculo de concentración de azúcares reductores antes de la evaporación.

$$\frac{6 g AT}{100 g Sln inicial} * 3527 ml Sln inicial * \frac{1,02369 g Sln}{1 ml Sln inicial} = 216,634 g AT$$

$$3527 ml Sln * \frac{1,02369 g Sln}{1 ml Sln} = 3610,55 g Sln inicial$$

$$\% AR = \frac{178,956 g AR}{3610,55 g Sln inicial} * 100\% = 4,96\%$$

5.2.2 Porcentaje de azúcares reductores del zumo concentrado.

$$\frac{0,612 g AR}{100 g Sln} * \frac{1,08298 g Sln}{1 ml Sln} * \frac{1000 mg AR}{1 g AR} = \frac{6,628 mg AR}{ml Sln}$$

$$\frac{6,628 mg AR}{ml Sln diluida} * \frac{27 ml Sln diluida}{1 ml Sln conc.} * 1000 ml Sln conc. * \frac{1 g}{1000 mg} = 178,956 g AR$$

$$\% \text{ Azúcares Reductores} = \frac{178,956 \text{ gAR}}{1082,984 \text{ gSln}} \times 100\% = 16,5 \%$$

Tabla 17. Rendimiento de azúcares reductores para los casos: A,B,C,D

N	t (h)	A.R (%)		A.R. (g/ml)		A.R. (%)		A.R. (g/ml)	
		A	B	A	B	C	D	C	D
1	0	13,92	14,22	0,149	0,153	15,39	16,61	0,165	0,178
2	1	12,35	12,26	0,131	0,132	13,43	15,57	0,144	0,167
3	2	10,99	10,92	0,118	0,117	12,16	14,72	0,131	0,158
4	4	8,74	9,12	0,094	0,098	9,73	13,57	0,105	0,146
5	6	7,13	7,58	0,077	0,081	7,75	12,63	0,083	0,136
6	8	6,12	6,22	0,066	0,067	6,67	11,73	0,072	0,126
7	11	4,53	4,98	0,049	0,053	4,92	10,40	0,053	0,114
8	12	4,21	4,74	0,048	0,051	4,67	10,10	0,052	0,112

Tabla 18. Rendimiento de azúcares reductores para los casos: E,F,G,H

N	t (h)	A.R (%)		A.R. (g/ml)		A.R. (%)		A.R. (g/ml)	
		E	F	E	F	G	H	G	H
1	0	17,73	16,65	0,192	0,180	16,50	18,17	0,179	0,179
2	1	14,83	14,34	0,161	0,155	14,26	17,93	0,161	0,176
3	2	13,73	13,26	0,149	0,144	12,53	14,19	0,148	0,164
4	4	11,40	11,37	0,123	0,123	9,75	12,25	0,124	0,143
5	6	9,68	9,81	0,105	0,106	7,56	10,87	0,107	0,118
6	8	7,85	8,31	0,085	0,090	6,10	9,99	0,096	0,103
7	11	7,19	7,44	0,078	0,081	5,37	6,84	0,080	0,092
8	12	7,02	6,87	0,076	0,080	5,18	6,82	0,079	0,091

Tabla 19. Rendimiento de azúcares reductores para los casos: I,J,K,L

N	t (h)	A.R (%)		A.R. (g/ml)		A.R. (%)		A.R. (g/ml)	
		I	J	I	J	K	L	K	L
1	0	18,0	18,52	0,197	0,211	19,93	20,57	0,218	0,225
2	1	15,7	17,23	0,172	0,197	18,63	17,25	0,186	0,188
3	2	13,9	15,22	0,152	0,174	15,29	15,25	0,167	0,166
4	4	11,9	13,09	0,130	0,149	12,17	11,46	0,143	0,125
5	6	10,3	11,55	0,112	0,132	10,63	9,88	0,126	0,108
6	8	8,80	9,88	0,096	0,123	8,95	8,25	0,102	0,090
7	11	7,3	9,31	0,092	0,112	6,25	6,58	0,098	0,072
8	12	7,2	9,13	0,090	0,109	6,18	6,45	0,098	0,070

Tabla 20. Rendimiento de azúcares reductores para el biorreactor, CASO G

N	t (h)	Azúcares(%)	Azúcares (g/ml)
1	0	18,3	0,198
2	1	15,6	0,169
3	2	13,8	0,149
4	4	11,4	0,123
5	6	9,2	0,099
6	8	7,3	0,079
7	11	5,6	0,061
8	12	5,3	0,060

5.3 Ajuste del modelo cinético que caracteriza el proceso de la fermentación alcohólica del zumo de pomarrosa.

5.3.1 Cálculo de la velocidad de reacción a partir del diagrama concentración de sustrato en función del tiempo $CS = f(t)$. Para el proceso de fermentación se determinó la variación de concentración de sustrato en el tiempo, a continuación se presenta el gráfico con la ecuación que representa el fenómeno, referido al Caso G: 20°Brix; 3,5% de levadura; pH=3,5.

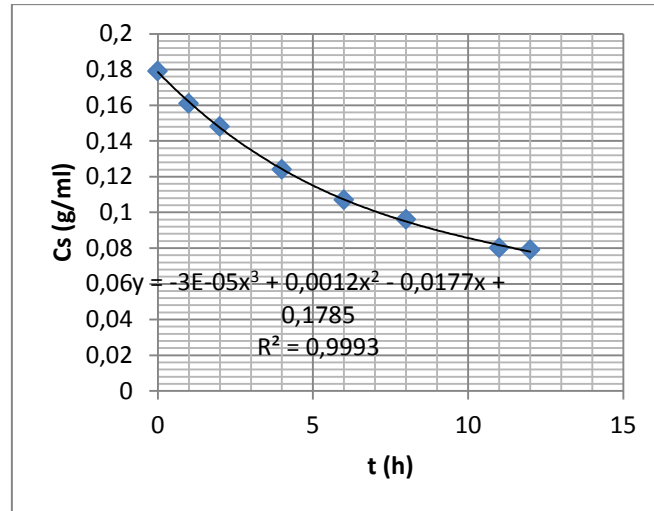


Gráfico 1. Concentración de sustrato en función del tiempo para el CASO G

Cálculo de la velocidad de reacción que predice el modelo:

$$CS = -0,00003t^3 + 0,0012t^2 - 0,0177t + 0,1785 \quad (30)$$

Derivando la ecuación, se tiene:

$$(-r_s) = \left(-\frac{dC_s}{dt}\right) = 3(0,00003)t^2 + 2(-0,0012)t + 0,0177 \quad (31)$$

$$(-r_s) = \left(-\frac{dC_s}{dt}\right) = 0,00009t^2 - 0,0024t + 0,0177 \quad (32)$$

Para $t=0$:

$$\left(-\frac{dC_s}{dt}\right) = 0,0177 \text{ g/mlh}$$

5.3.2 Modelo cinético de Michaelis Menten. Al realizar la linealización de la ecuación de MichaelisMenten, tomando en cuenta el consumo de sustrato, se obtiene la siguiente expresión:

$$\frac{1}{t} \ln \left(\frac{CS_0}{CS} \right) = -\frac{1}{K_m} \left(\frac{CS_0 - CS}{t} \right) + \frac{V_{max}}{K_m} \quad (33)$$

Mediante esta ecuación se pueden determinar la V_{max} y k_s . Con los datos experimentales se obtienen los diferentes parámetros de la ecuación:

Tabla 21. Datos necesarios para linealizar la ecuación de MichaelisMenten

Tiempo	CS	(1/t)*(ln(CSo/CS))	(Cso-CS)/t
(horas)	g/ml		g/h
0	0,179	-	
1	0,161	0,1287	0,0180
2	0,148	0,1166	0,0155
4	0,124	0,1152	0,0138
6	0,107	0,1100	0,0120
8	0,096	0,1018	0,0104
11	0,08	0,1011	0,0091
12	0,079	0,0944	0,0084

En donde Cso es la concentración de sustrato en el tiempo inicial (t=0)

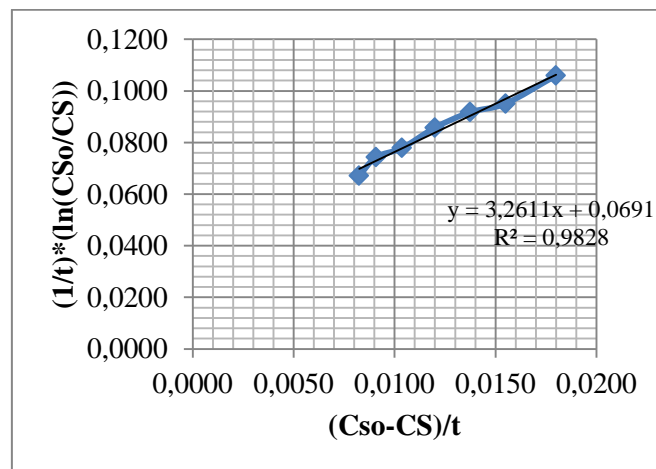


Gráfico 2. Linealización de la ecuación de Michaelis Menten Caso G

Del gráfico $(1/t) (\ln(C_{So}/C_S)) = f((C_{So}-C_S)/t)$, se obtiene la siguiente ecuación:

$$\frac{1}{t} * \ln\left(\frac{C_{So}}{C_S}\right) = 3,2611 \left(\frac{C_{So}-C_S}{t}\right) + 0,0691 \quad (34)$$

En donde:

$$K_m = -\frac{1}{m}$$

$$V_{max} = b * K_m$$

$$K_m = -\frac{1}{3,2611}$$

$$V_{max} = 0,0691 * (-0,3066)$$

$$K_m = -0, \frac{3066g}{ml} \quad V_{max} = -0,02119 \frac{g}{ml * h}$$

Ecuación modelo cinético de Michaelis Menten:

$$(-r_s) = \frac{V_{max} * S}{k_s + S} \quad (35)$$

$$(-r_s) = \frac{-0,02119 * S}{-0,3066 + S}$$

5.3.2.1 Cálculo de la concentración de sustrato que predice el modelo cinético a partir de la ecuación de Michaelis Menten.

$$S = \frac{-r_s * K_m}{V_{max} + r_s} \quad (36)$$

$$S = \frac{0,0177 * (-0,3066)}{(-0,02119 - 0,0177)}$$

$$S = 0,140 \text{ g/ml}$$

5.3.3 Modelo cinético de primer orden. Mediante los datos experimentales se verifica si la cinética del zumo de pomarrosa obedece a una cinética de primer orden, mediante la siguiente ecuación:

$$r_A = \frac{dC_A}{dt} \quad (37)$$

En donde: r_A = velocidad volumétrica de reacción

Ca= Concentración de sustrato en g/ml.

Integrando y separando términos, se obtiene:

$$\ln C_A = \ln C_{A0} - k_1 t \quad (38)$$

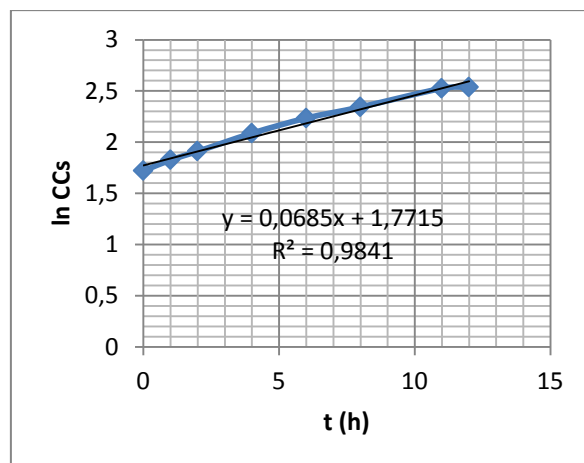


Gráfico 3. Ecuación para la cinética de primer orden caso G

A partir del gráfico $\ln C_A = f(t)$, se obtiene la siguiente ecuación:

$$\ln C_A = -0,0685t - 1,7715 \quad (39)$$

De donde: $m = -k$; $k = 0,0685h^{-1}$

Ecuación modelo cinético de primer orden:

$$(-r_A) = k_1 C_A \quad (40)$$

$$(-r_A) = 0,0685 C_A$$

5.3.3.1 Cálculo de la concentración de sustrato que predice el modelo cinético a partir del modelo de primer orden.

$$\ln C_A = -1,7715 - 0,0685t \quad (41)$$

Para $t = 0$

$$\ln C_A = -1,7715$$

$$C_A = 0,170g/ml$$

5.3.3.2 Cálculo de la velocidad de reacción teórica.

$$(-r_A) = k_1 C_A \quad (42)$$

Para $t = 0$

$$(-r_A) = 0,0685 * 0,17$$

$$(-r_A) = 0,0123g / (ml * h)$$

5.3.4 Modelo cinético autocatalítico. Con los datos obtenidos de consumo de sustrato y formación de biomasa, aplicamos la ecuación que define el modelo autocatalítico:

$$\ln\left(\frac{C_B/C_{BO}}{C_S/C_{SO}}\right) = (C_{SO} + C_{CO})k * t \quad (43)$$

Cada término de la ecuación se tabulan en la siguiente tabla, en donde C_{SO} y C_{CO} son datos cuantificados a $t=0$.

Tabla 22. Linealización de la ecuación del modelo autocatalítico

Tiempo, (h)	CS (g/ml)	CB (g/ml)	$\ln[(C_B/C_{BO})/(C_S/C_{SO})]$
0	0,179	0,0265	0
1	0,161	0,0272	0,1321
2	0,148	0,0287	0,2699
4	0,124	0,0298	0,4845
6	0,107	0,0375	0,8618
8	0,096	0,0394	1,0197
11	0,08	0,0425	1,2777
12	0,079	0,043	1,3020

A partir de estos datos se obtiene el parámetro k y la ecuación que define este modelo:

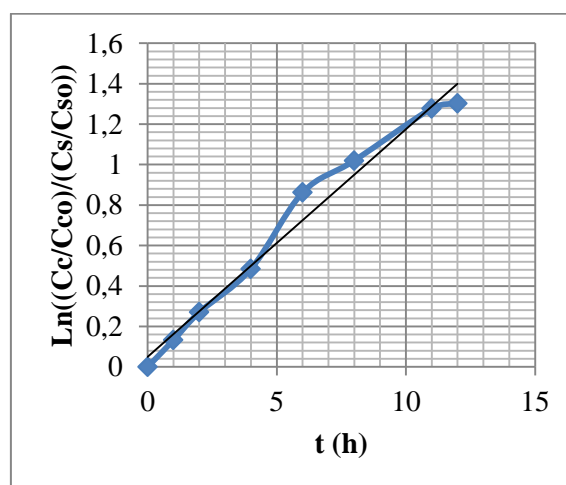


Gráfico 4. Ecuación para la cinética autocatalítica caso G

De la regresión lineal se obtiene la ecuación:

$$\ln[(C_B/C_{BO})/(C_S/C_{SO})] = 0,1125 t \quad (44)$$

En donde $m = (C_{SO} + C_{BO}) * k$

$$0,1125 = (C_{SO} + C_{BO}) * k$$

$$k = \frac{0,1125}{(0,179+0,0265)} = 0,5474 \text{ g/ml}$$

La ecuación del modelo cinético autocatalítico queda expresada de la siguiente manera:

$$(-\gamma_S) = k * C_B * C_S \quad (45)$$

$$(-\gamma_S) = 0,5474 * C_B * C_S$$

Para t=0 $(-\gamma_S) = 0,5474 * 0,0265 * 0,179$

$$(-\gamma_S) = 0,00260 \text{ g /ml}^2\text{h}$$

5.3.4.1 Cálculo de la concentración de sustrato que predice el modelo cinético a partir del modelo autocatalítico

$$\ln\left(\frac{C_B/C_{BO}}{C_S/C_{SO}}\right) = (C_{SO} + C_{BO})k * t \quad (46)$$

$$\ln[(C_B/C_{BO})/(C_S/C_{SO})] = 0,1917 t$$

$$\ln C_B - \ln C_{BO} - \ln C_S + \ln C_{SO} = 0,1913 * t$$

$$\ln C_S = \ln 0,0265 - \ln 0,0265 + \ln 0,179 - 0,1125t$$

Para t=0

$$C_S = 0,179 \frac{\text{g}}{\text{ml}}$$

5.3.5 Cinética de Monod para la proliferación de biomasa.

5.3.5.1 Cálculo de la velocidad de crecimiento bacteriano. Para determinar la velocidad de crecimiento bacteriano, se deriva la ecuación obtenida del gráfico: concentración de biomasa en función del tiempo:

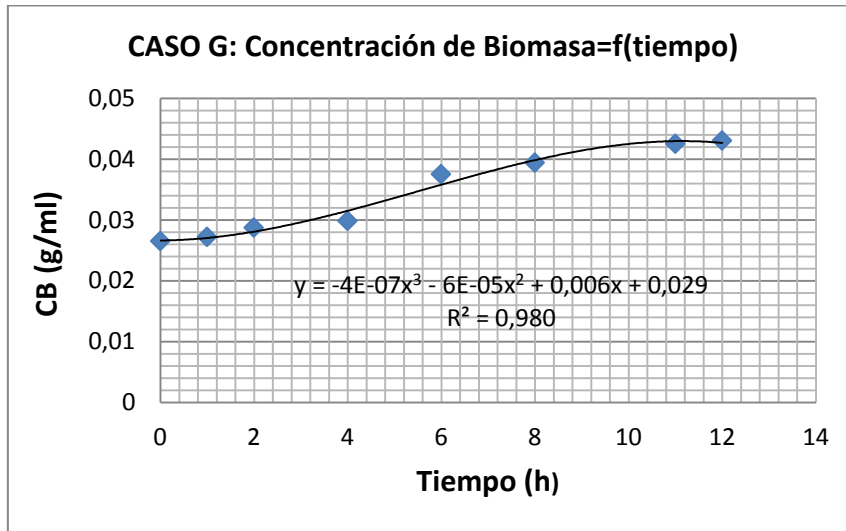


Gráfico 5. Concentración de biomasa en función del tiempo caso G

$$r_x = \frac{dx}{dt} = -0,0000004x^3 - 0,00006x^2 + 0,006x + 0,029 \quad (47)$$

$$r_x = \frac{dx}{dt} = 3(-0,000004)t^2 - 2(0,00006)t + 0,006$$

Para $t=0$

$$r_x = \frac{dx}{dt} = 0,006 \text{ g/ml h}$$

Durante la fase de crecimiento, la velocidad de desarrollo celular se describe mediante la ecuación:

$$\gamma_x = \frac{dx}{dt} = \mu * x \quad (48)$$

En donde: γ_x = Velocidad o tasa de crecimiento bacteriano.

μ = Velocidad específica de crecimiento

x = Concentración del microorganismo

Entonces:
$$\mu = \frac{\gamma_X}{x} \quad (49)$$

Se determina μ para cada tiempo.

Se tiene que la ecuación de Monod es análoga a la de MichaelisMenten:

$$\mu = \frac{\mu_m * S}{k_S + S} \quad (50)$$

En donde: μ_m : Máxima velocidad de crecimiento

k_S : Constante promedio de velocidad

S : Concentración de sustrato.

Para determinar los parámetros de esta ecuación, se linealiza la misma, obteniendo:

$$\frac{S}{\mu} = \frac{k_S}{\mu_{max}} + \frac{1}{\mu_{max}} * S \quad (51)$$

Mediante el gráfico (CS/ μ) en función de (CS), se obtienen los parámetros cinéticos:

Tabla 23. Datos necesarios para linealizar la ecuación de Monod

Tiempo	X	CS	γ_S	$\mu = \gamma_S / CS$	CS/U
(horas)	g/ml	g/ml	dCs/dt	h^{-1}	gh/ml
0	0,0265	0,179	0,0060	0,2264	0,7906
1	0,0272	0,161	0,00588	0,2161	0,7450
2	0,0287	0,148	0,00576	0,2005	0,7381
4	0,0298	0,124	0,00550	0,1846	0,6717
6	0,0375	0,107	0,00524	0,1396	0,6665
8	0,0394	0,096	0,00496	0,1260	0,6619
11	0,0425	0,08	0,00453	0,1067	0,5498
12	0,043	0,079	0,00439	0,1020	0,4745

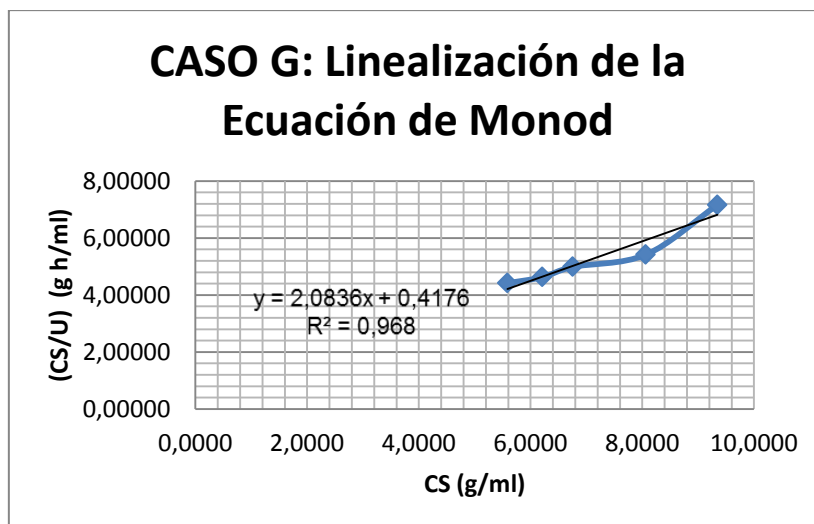


Gráfico 6. Linealización de la ecuación de Monod Caso G

De donde:

$$\frac{S}{\mu} = \frac{k_S}{\mu_{max}} + \frac{1}{\mu_{max}} * s$$

En esta ecuación: $b = \frac{k_S}{\mu_{max}}$

$$m = 1/\mu_{max}$$

$$k_S = 0,4176 * 0,4799$$

$$\mu_{max} = 1/2,0836$$

$$k_S = 0,2004$$

$$\mu_{max} = 0,4799$$

5.3.5.2 Ecuación del modelo cinético de Monod. Reemplazando la ecuación 49 en la ecuación 50, se obtiene:

$$r_x = \frac{\mu_m * S * X}{k_S + S} \quad (52)$$

$$r_x = \frac{0,4799 * S * X}{0,2004 + S}$$

5.3.5.3 Cálculo de la concentración de sustrato que predice el modelo cinético a partir de la ecuación de Monod.

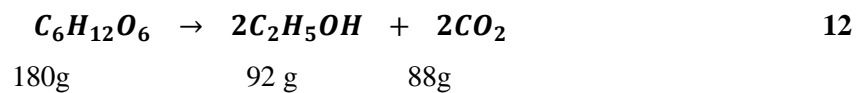
$$S = \frac{-r_x * k_S}{r_x - \mu_{max} * X} \quad (53)$$

$$S = \frac{-0,006 * (0,2004)}{0,006 - (0,4799 * 0,0265)}$$

$$S = 0,179 \frac{g}{ml}$$

5.4 Cálculo de la tasa del rendimiento del producto obtenido ($Y_{P/S}$)

5.4.1 Cálculo del rendimiento teórico.



De la caracterización físico-química realizada a la pomarrosa se puede determinar que la cantidad de azúcares reductores es de 7,7 gramos, por lo tanto:

$$7,77g \text{ AR} * \frac{92 g C_2H_5OH}{180 g C_6H_{12}O_6} = 3,971 g C_2H_5OH$$

Teóricamente a partir de 7,77g de azúcares reductores se deben producir 3,971g de etanol.

$$Y_{P/S}(\text{Teórico}) = \frac{3,971 g C_2H_5OH}{7,77 g AR} = 0,5111 \frac{g C_2H_5OH}{g AR}$$

5.4.2 Cálculo del rendimiento experimental.

$$(Y_{P/S}) = \frac{Pf - Po}{So - S} \quad (54)$$

$$\left(Y_{\frac{P}{S}}\right) = \frac{0,038128 - 0,013738}{0,149 - 0,045}$$

$$(Y_{P/S}) = 0,2345 \frac{g \text{ de Etanol}}{g \text{ de Sustrato}}$$

Este resultado significa que se producen 0,2345 gramos de etanol por cada gramo de sustrato.

5.4.3 Cálculo de la eficiencia de la fermentación del zumo de pomarrosa

$$e = \frac{Y_{P/S}(\text{experimental})}{Y_{P/S}(\text{teórico})} * 100\% \quad (55)$$

$$e = \frac{0,2345}{0,5111} * 100\%$$

$$e = 45,89\%$$

5.5 Resultados de la concentración de sustrato teórico y experimental para los diferentes modelos cinéticos.

Tabla 24. Concentración de sustrato experimental y teórico

		Modelo Michaelis	Cinética de Primer Orden	Modelo Autocatalítico	Modelo de Monod
t	CS_{exp}	CSteo	CSteo	CSteo	CSteo
h	g/ml	g/ml	g/ml	g/ml	g/ml
0	0,179	0,168	0,170	0,179	0,179
1	0,161	0,160	0,159	0,164	0,171
2	0,148	0,150	0,148	0,155	0,155
4	0,124	0,128	0,129	0,128	0,145
6	0,107	0,103	0,113	0,129	0,100
8	0,096	0,078	0,098	0,108	0,093
11	0,08	0,047	0,080	0,083	0,084
12	0,079	0,041	0,075	0,075	0,082

5.6 Resultados de la velocidad de reacción teórica y experimental para los diferentes modelos cinéticos.

Tabla 25. Velocidades de reacciones experimentales y teóricas

		Modelo Michaelis	Cinética de Primer Orden	Modelo Autocatalítico	Modelo de Monod
t	γ_{exp}	γ_{teo}	γ_{eo}	γ_{teo}	γ_{teo}
h	g/ml h	g/ml h	g/ml h	g/ml h	g/ml h
0	0,0177	0,0211	0,0123	0,00260	0,00600
1	0,0154	0,0157	0,0110	0,00240	0,00588
2	0,0133	0,0129	0,0101	0,00233	0,00576
4	0,0095	0,0090	0,0085	0,00202	0,00550
6	0,0065	0,0069	0,0073	0,00220	0,00524
8	0,0043	0,0058	0,0066	0,00207	0,00496
11	0,0022	0,0044	0,0055	0,00186	0,00453
12	0,0019	0,0044	0,0054	0,00186	0,00439

5.7 Resultados de la concentración de sustrato teórico y experimental para el experimento realizado en el biorreactor.

Tabla 26. Concentración de sustrato teórico y experimental del biorreactor

	Concentración de sustrato experimental	Modelo Michaelis	Cinética de Primer Orden	Modelo Autocatalítico
t	CS exp	CS teo	CS teo	CS teo
h	g/ml	g/ml	g/ml	g/ml
0	0,198	0,1746	0,188	0,198
1	0,169	0,1618	0,169	0,181
2	0,149	0,1496	0,153	0,164
4	0,123	0,1247	0,124	0,135
6	0,099	0,1005	0,101	0,110
8	0,079	0,0802	0,082	0,090
11	0,061	0,0658	0,061	0,064
12	0,057	0,0658	0,055	0,058

5.8 Resultados de la velocidad de reacción teórica y experimental para el experimento realizado en el biorreactor.

Tabla 27. Velocidad de reacción teórica y experimental obtenidos del biorreactor

		Modelo Michaelis	Cinética de Primer Orden	Modelo Autocatalítico
t	r exp	r teo	Rteo	Rteo
h	g/ml	g/ml	g/ml	g/ml
0	0,0252	0,0339	0,0203	0,00688
1	0,0215	0,0235	0,0174	0,00603
2	0,0185	0,0184	0,0153	0,00543
4	0,0135	0,0132	0,0126	0,00468
6	0,0097	0,0095	0,0102	0,00389
8	0,0071	0,0070	0,0081	0,00320
11	0,0055	0,0050	0,0063	0,00254
12	0,0055	0,0046	0,0059	0,00240

5.9 Resultados de las tasas de rendimiento y eficiencia del producto obtenido

Tabla 28. Rendimiento y eficiencia del etanol obtenido

CASOS	Rendimiento teórico (g de etanol/g de sustrato)	Rendimiento experimental (g de etanol/g de sustrato)	Eficiencia (%)
A	0,5111	0,234	45,79
B	0,5111	0,437	85,72
C	0,5111	0,226	44,23
D	0,5111	0,313	61,19
E	0,5111	0,255	49,96
F	0,5111	0,349	68,29
G	0,5111	0,222	43,44
H	0,5111	0,309	60,47
I	0,5111	0,417	81,64

Continuación tabla 28.

J	0,5111	0,369	72,19
K	0,5111	0,448	87,65
L	0,5111	0,398	76,85
Reactor	0,5111	0,469	91,92

5.10 Diagramas de la concentración de sustrato teórico y experimental en función del tiempo.

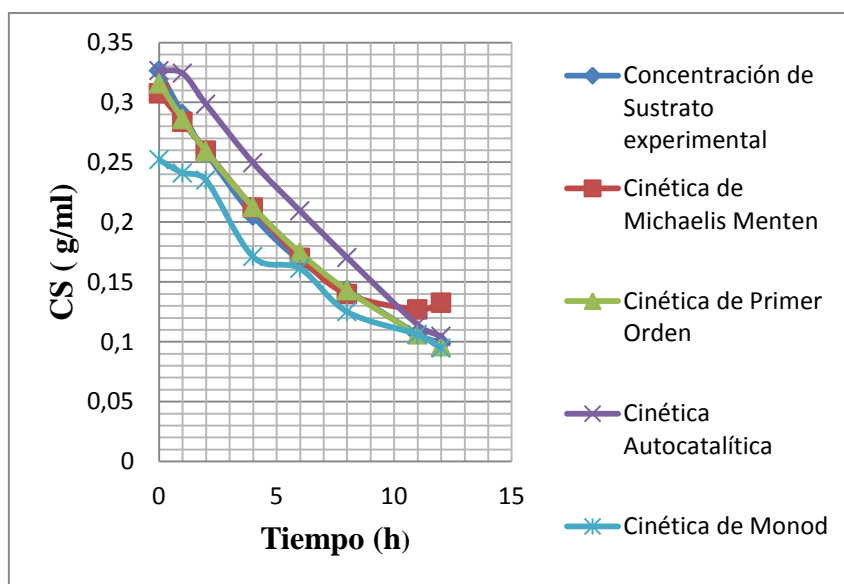


Gráfico 7. Concentración de sustrato teórico y experimental CASO A

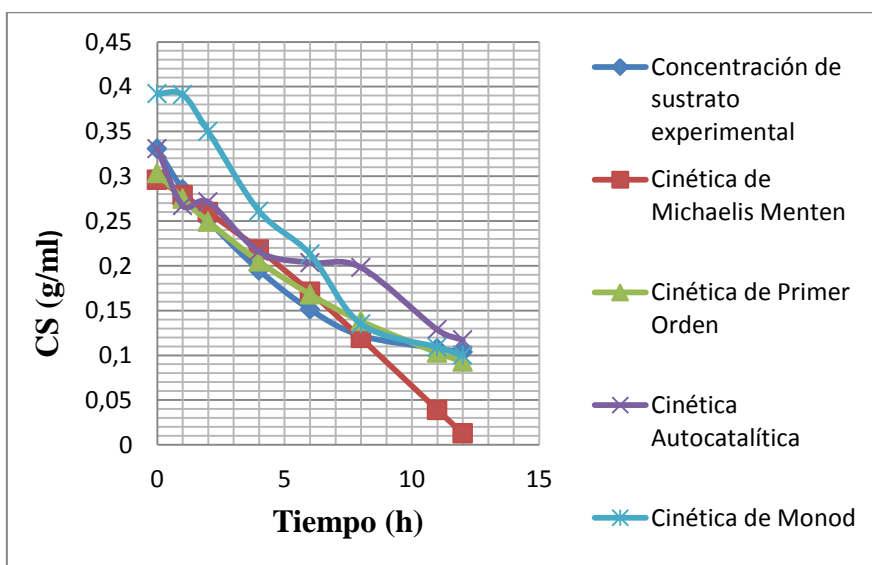


Gráfico 8. Concentración de sustrato teórico y experimental CASO B

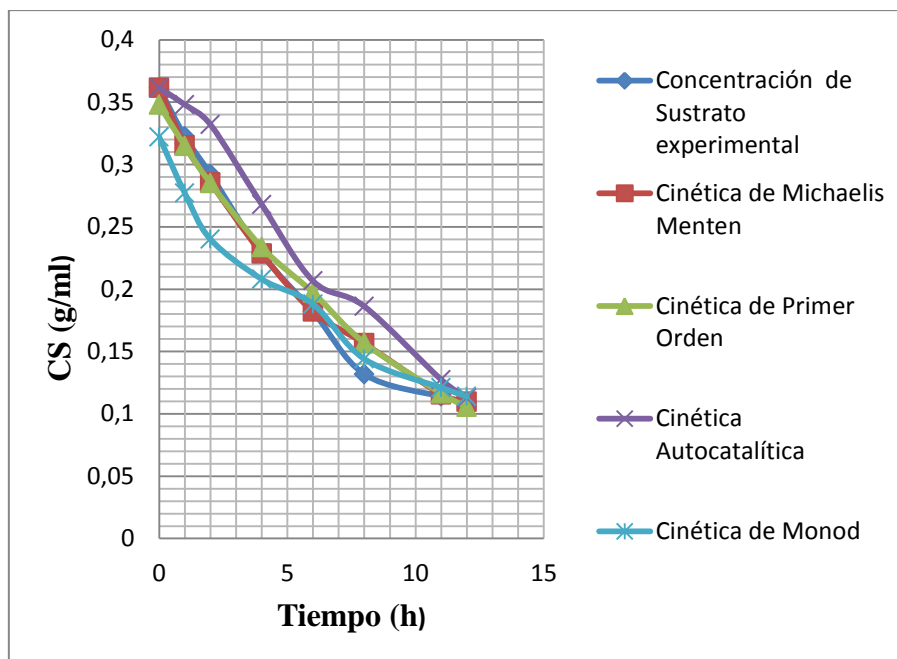


Gráfico 9. Concentración de sustrato teórico y experimental CASO C

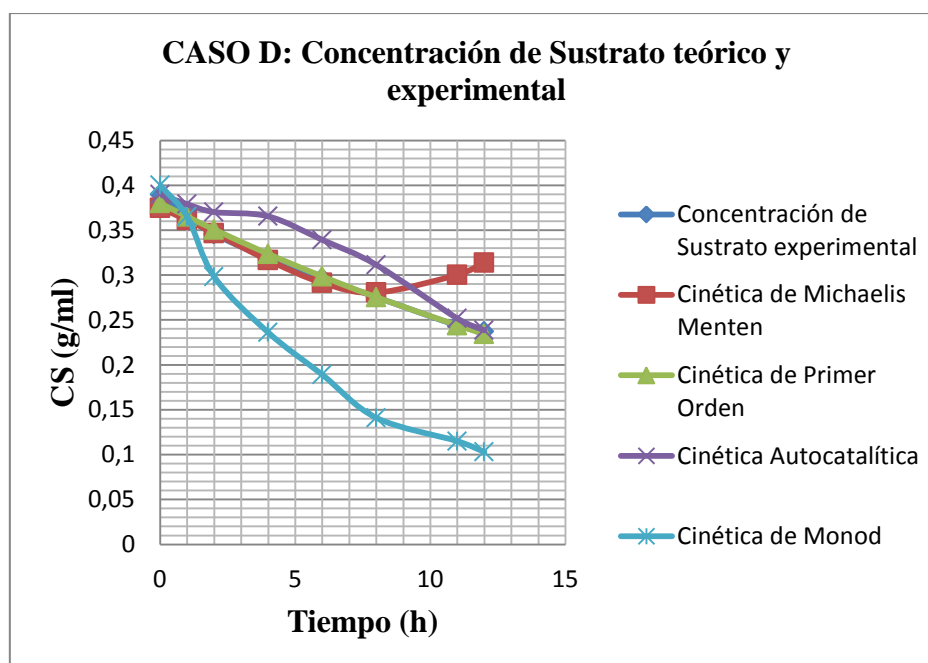


Gráfico 10. Concentración de sustrato teórico y experimental CASO D

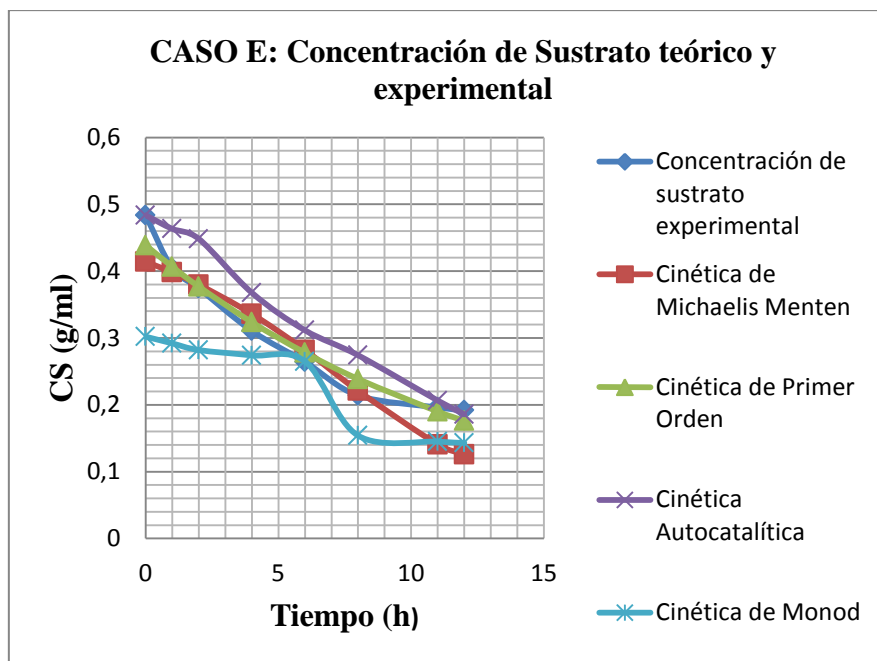


Gráfico 11. Concentración de sustrato teórico y experimental CASO E

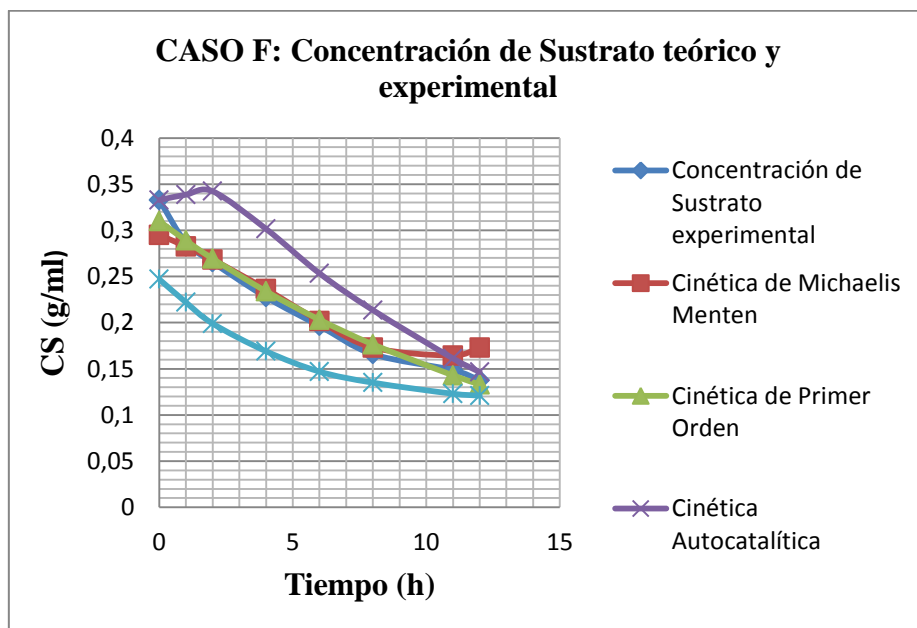


Gráfico 12. Concentración de sustrato teórico y experimental CASO F

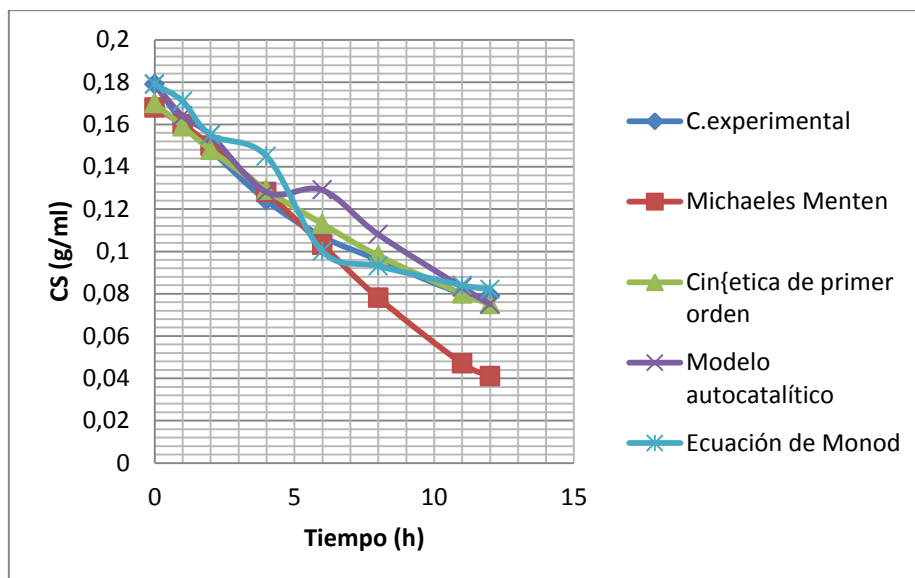


Gráfico 13. Concentración de sustrato teórico y experimental CASO G

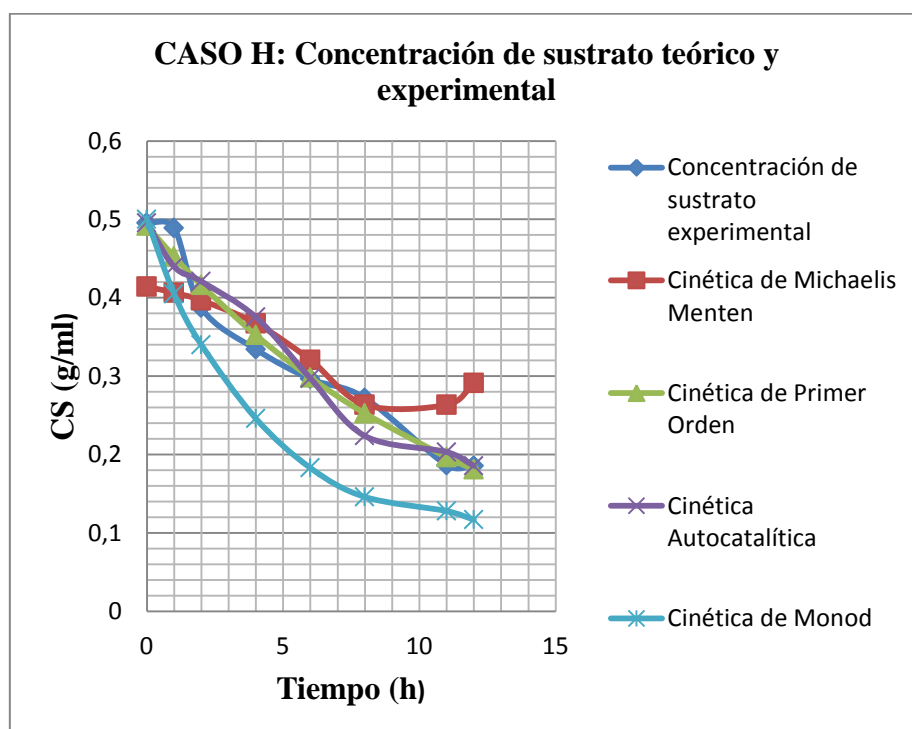


Gráfico 14. Concentración de sustrato teórico y experimental CASO H

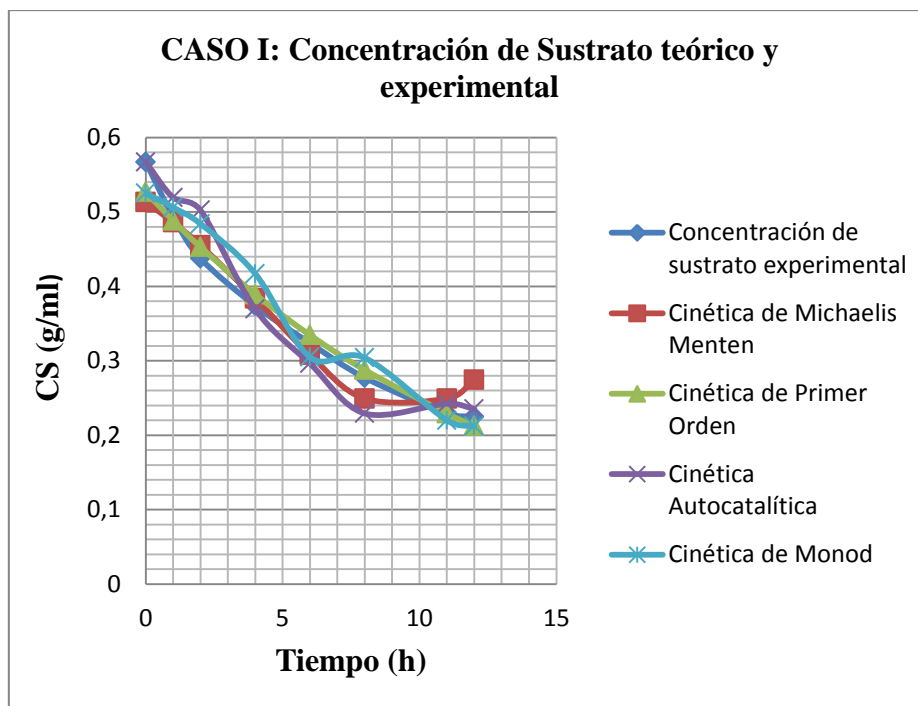


Gráfico 15. Concentración de sustrato teórico y experimental CASO I

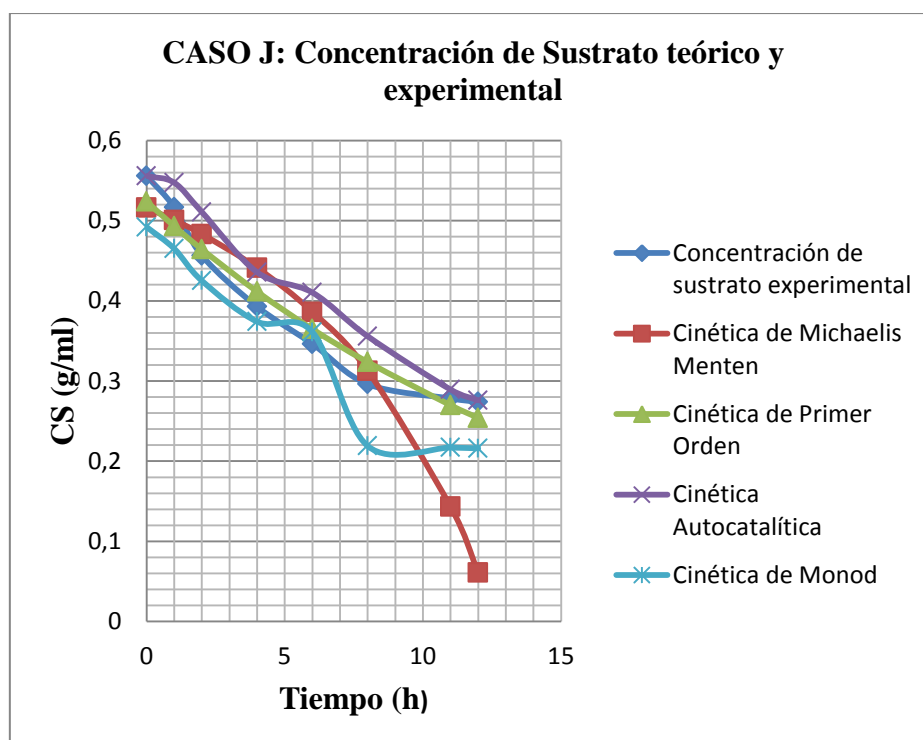


Gráfico 16. Concentración de sustrato teórico y experimental CASO J

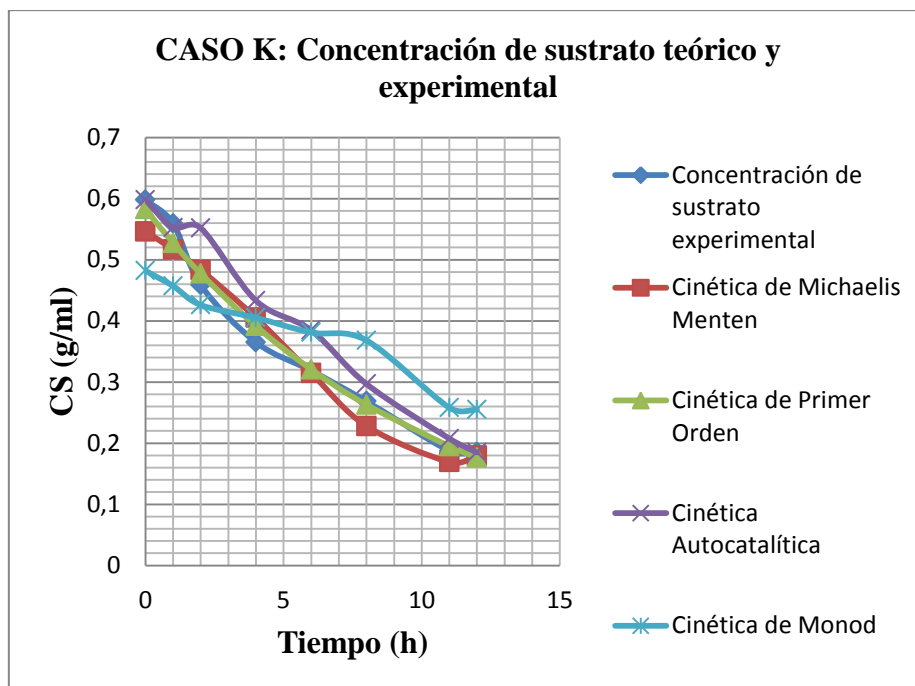


Gráfico 17. Concentración de sustrato teórico y experimental CASO K

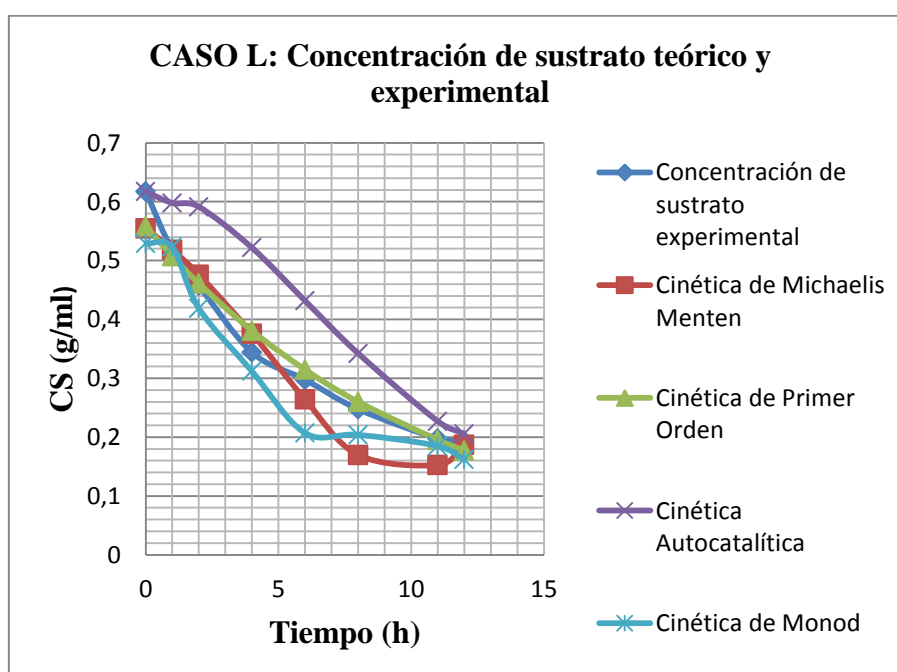


Gráfico 18. Concentración de sustrato teórico y experimental CASO L

5.11 Diagramas de la concentración de sustrato teórico y experimental en función del tiempo del experimento realizado en el biorreactor.

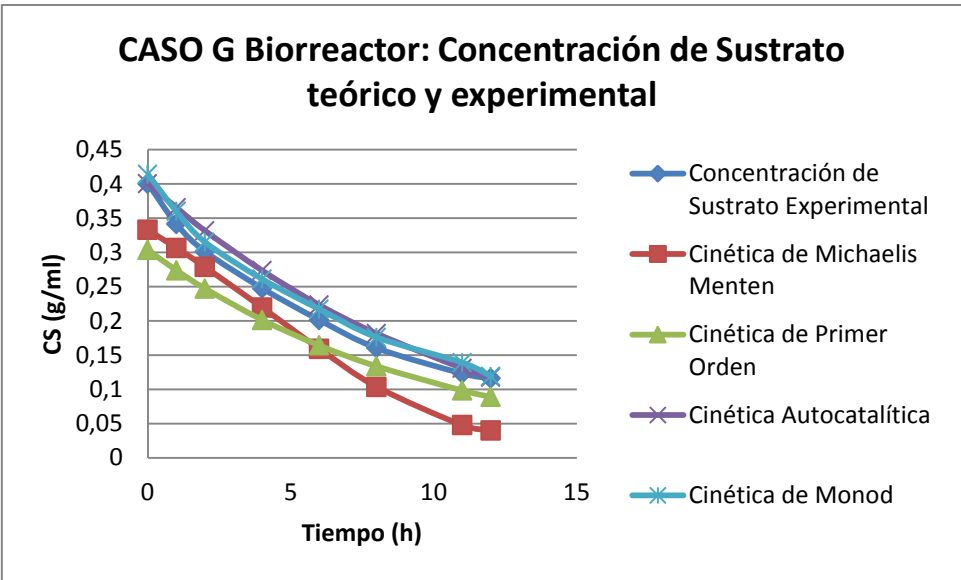


Gráfico 19. Concentración de sustrato teórico y experimental caso G para el biorreactor

5.12 Diagramas del consumo de sustrato, concentración de biomasa, y formación de producto en función del tiempo.

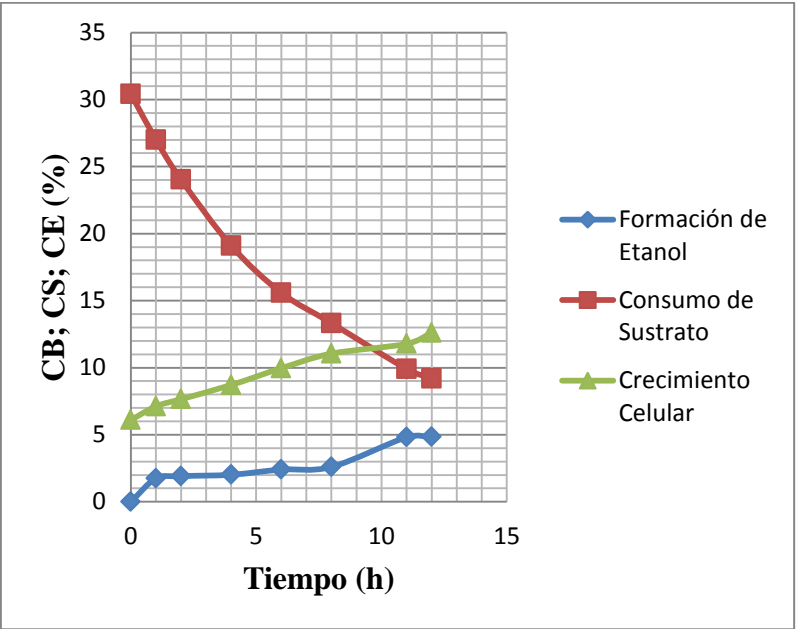


Gráfico 20. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo CASO A

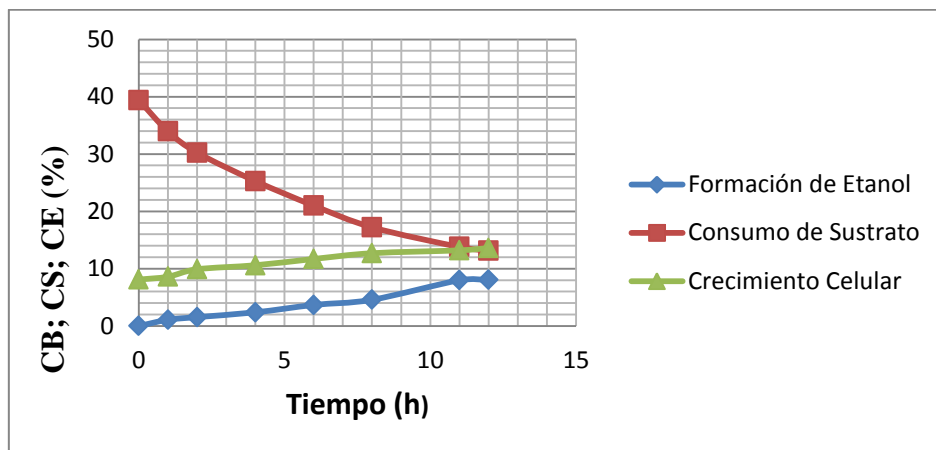


Gráfico 21. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo CASO B

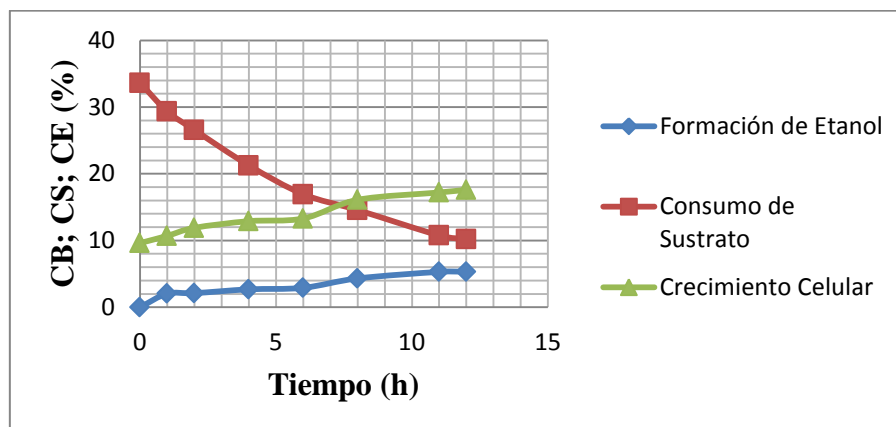


Gráfico 22. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo CASO C

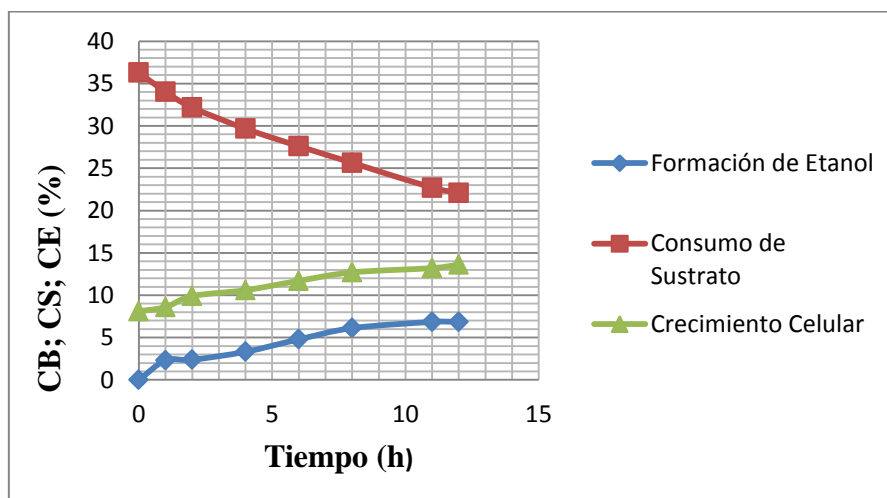


Gráfico 23. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo CASO D

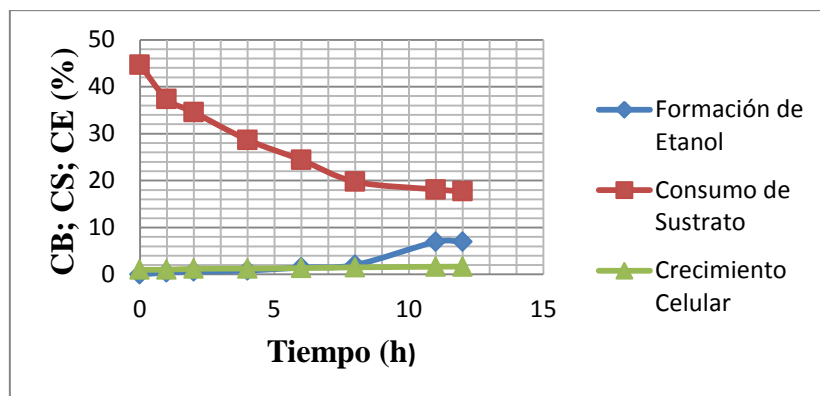


Gráfico 24. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo CASO E

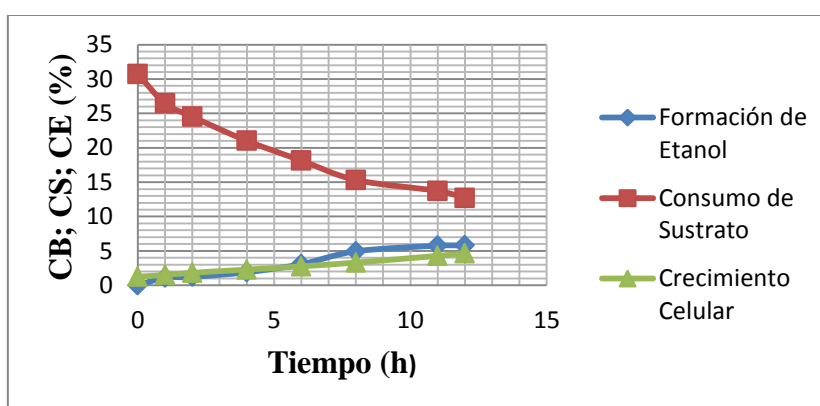


Gráfico 25. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo CASO F

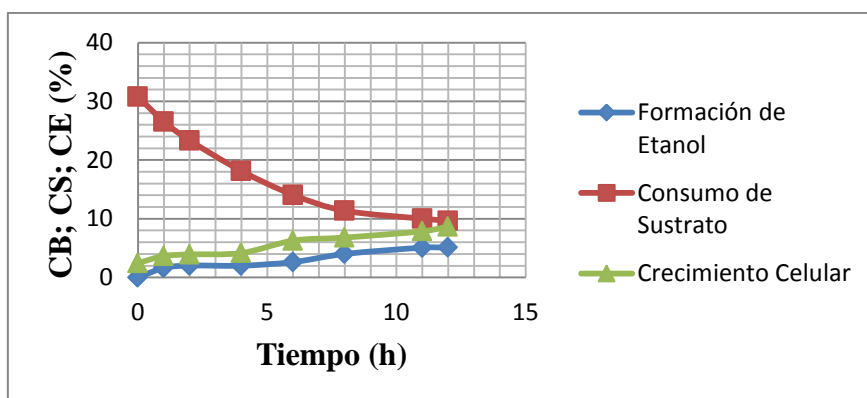


Gráfico 26. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo CASO G

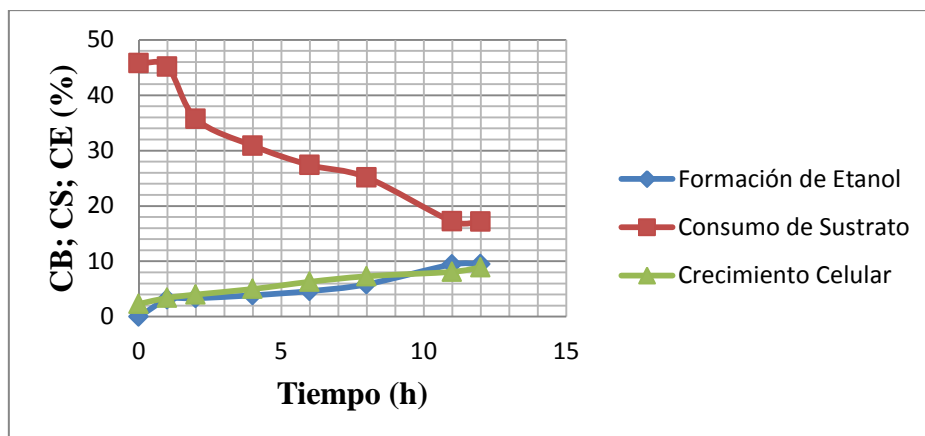


Gráfico 27. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo CASO H

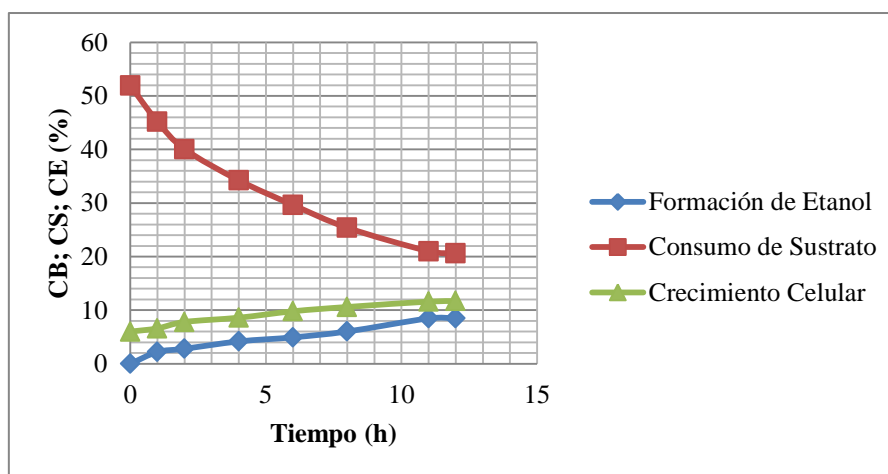


Gráfico 28. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo CASO I

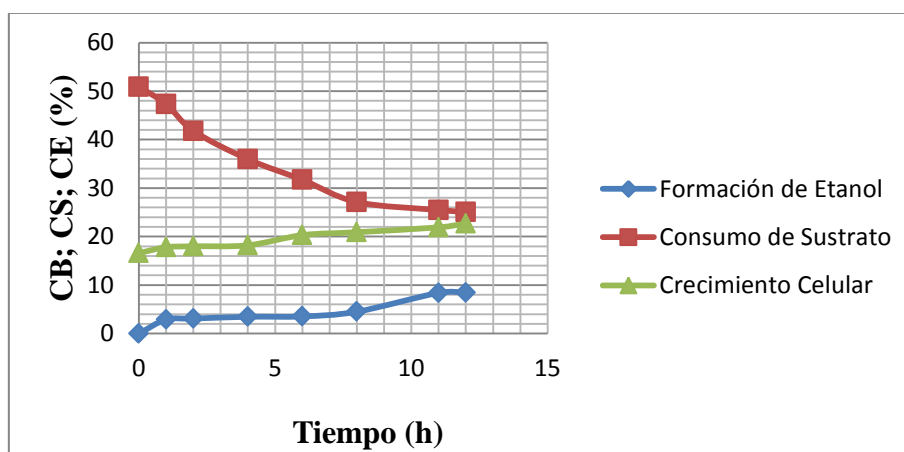


Gráfico 29. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo CASO J

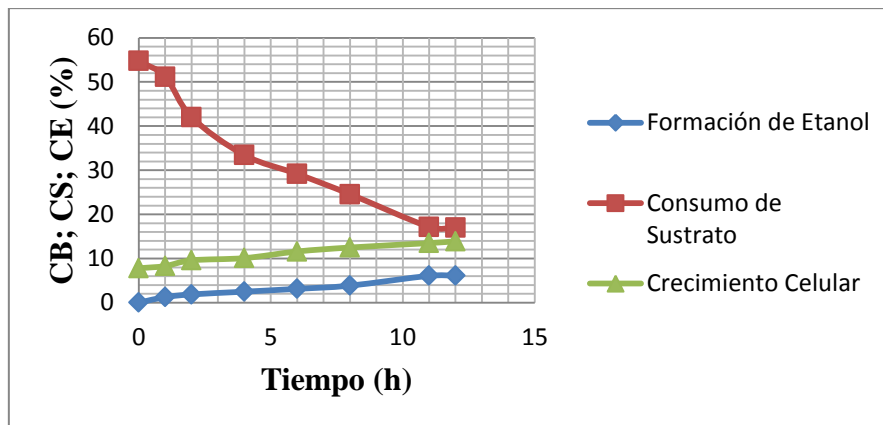


Gráfico 30. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo CASO K

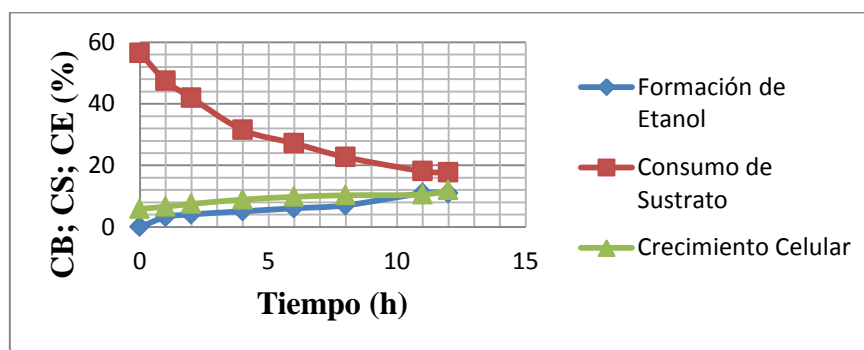


Gráfico 31. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo CASO L

5.13 Diagramas del consumo de sustrato, concentración de biomasa, y formación de producto en función del tiempo para el biorreactor.

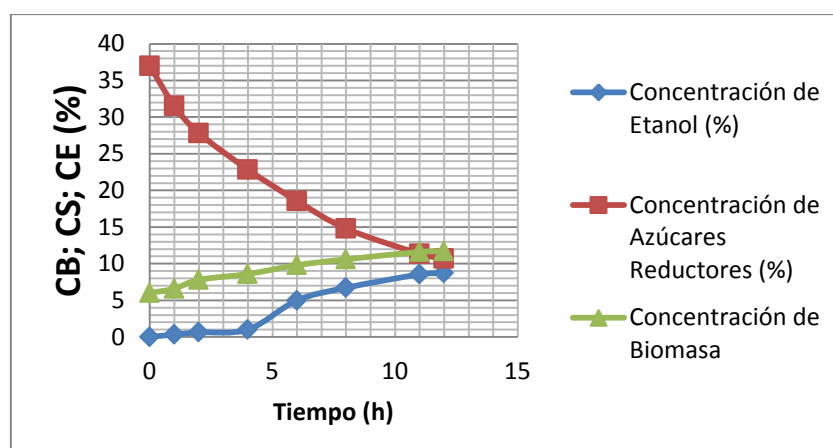


Gráfico 32. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo CASO G para el biorreactor

5.14 Resultados del volumen y grado alcohólico obtenido después de la destilación

Tabla 29. Volumen y grado alcohólico obtenido de la destilación

CASO	R	Volumen obtenido (ml)	Grado Alcohólico
A	1	128	17,3
	2	155	16,8
B	1	182	48,8
	2	124	49,7
C	1	160	21,4
	2	115	22,8
D	1	100	27,9
	2	93	31,0
E	1	114	30,5
	2	136	29,6
F	1	126	22,8
	2	108	26,4
G	1	132	20,6
	2	112	21,6
H	1	97	54,8
	2	82	32,3
I	1	141	42,0
	2	115	30,5
J	1	167	20,9
	2	153	30,1
K	1	170	17,8
	2	182	19,9
L	1	86	40,3
	2	94	30,8

Tabla 30. Volumen y grado alcohólico del producto destilado del biorreactor

CASO	Volumen fermentado (ml)	Volumen destilado (ml)	Grado Alcohólico
G	1500	732	60,7
	1200	524	68,2

5.15 Cálculo del grado de aceptabilidad (GA).

Para realizar las pruebas de aceptabilidad se tomaron 2 grupos de 10 personas cada grupo; uno masculino y otro femenino, en donde se evaluaron tres parámetros, como: Color que equivale de 20%, Olor que equivale al 10% y el más importante sabor que representa el 70% de la catación.

Estos porcentajes son multiplicados por los valores dados por las personas que realizaron el análisis sensorial, datos que se encuentran en las tablas 16 y 17 respectivamente.

La ecuación para determinar el grado de aceptabilidad se muestra a continuación

$$GA = Color * 0,20 + Olor * 0,1 + Sabor * 0,7 \quad (56)$$

Cálculo para muestra A, grupo masculino:

$$GA = (4*0,20 + 4*0,10 + 2*0,70)$$

$$GA = 2,6$$

Cálculo para muestra A, grupo femenino:

$$GA = (4*0,20 + 3*0,10 + 2*0,70)$$

$$GA = 2,5$$

Tabla 31. Resultados del grado de aceptabilidad grupo masculino

M \ C	1			2			3			4			5			6			7			8			9			10		
	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S
A	0,8	0,4	1,4	0,8	0,4	3,5	0,6	0,3	1,4	0,8	0,4	2,8	0,6	0,4	3,5	0,6	0,8	2,1	0,8	0,4	3,5	0,8	0,5	2,8	0,6	0,3	3,5	0,8	0,4	2,1
B	0,8	0,3	3,5	0,8	0,3	3,5	0,4	0,2	2,8	0,8	0,4	2,8	0,6	0,4	3,5	0,8	1,0	2,8	0,8	0,3	3,5	0,8	0,5	2,8	0,6	0,3	3,5	0,4	0,3	2,1
C	0,8	0,2	2,1	0,8	0,4	2,1	0,4	0,2	2,1	0,4	0,3	2,8	0,6	0,4	3,5	0,6	1,0	2,1	1,0	0,4	3,5	0,6	0,5	3,5	0,6	0,4	2,8	0,4	0,4	2,8
D	0,6	0,3	2,1	0,4	0,3	2,8	0,6	0,3	2,1	0,6	0,3	3,5	0,6	0,4	3,5	0,6	0,8	2,8	0,8	0,4	2,8	0,6	0,5	3,5	0,4	0,4	2,8	0,6	0,4	2,8
E	0,4	0,3	1,4	0,6	0,3	2,8	0,6	0,4	2,8	1,0	0,4	2,1	0,8	0,4	3,5	0,6	1,0	2,8	0,8	0,4	2,8	1,0	0,5	2,8	0,6	0,4	3,5	0,6	0,4	2,8
F	0,8	0,4	2,1	0,6	0,4	2,8	0,8	0,3	2,8	0,4	0,3	2,8	0,6	0,4	2,8	0,6	0,8	2,1	0,8	0,5	2,8	1,0	0,3	3,5	0,6	0,3	2,1	0,8	0,4	2,1
G	0,6	0,4	3,5	0,6	0,4	2,8	0,6	0,2	3,5	0,6	0,4	3,5	0,8	0,5	2,8	0,6	0,8	2,8	1,0	0,5	3,5	0,4	0,3	3,5	0,8	0,2	2,8	0,8	0,5	3,5
H	0,8	0,2	1,4	0,8	0,3	2,1	0,4	0,3	2,1	0,8	0,3	3,5	1,0	0,4	3,5	0,6	0,6	2,8	0,6	0,5	3,5	0,8	0,5	2,1	0,8	0,2	2,1	0,6	0,5	2,1
I	0,6	0,3	2,1	0,8	0,3	1,4	0,8	0,4	3,5	0,8	0,4	2,1	1,0	0,4	3,5	0,8	0,8	1,4	0,8	0,3	2,8	0,8	0,4	3,5	0,8	0,3	2,8	0,8	0,3	2,8
J	0,8	0,4	2,1	0,8	0,4	2,1	1,0	0,4	2,1	1,0	0,3	2,8	0,8	0,4	2,8	0,8	0,8	1,4	1,0	0,4	2,1	0,8	0,5	3,5	1,0	0,3	3,5	1,0	0,4	3,5
K	0,4	0,3	2,1	0,8	0,3	2,8	0,8	0,4	2,1	1,0	0,4	2,8	1,0	0,5	3,5	1,0	1,0	2,8	0,8	0,4	2,8	1,0	0,5	2,1	0,8	0,4	3,5	1,0	0,4	2,1
L	0,6	0,4	2,8	0,8	0,3	2,8	0,8	0,4	2,8	1,0	0,4	3,5	0,8	0,4	3,5	1,0	1,0	2,1	1,0	0,4	3,5	1,0	0,4	3,5	1,0	0,4	3,5	1,0	0,4	2,8

Tabla 32. Resultados del grado de aceptabilidad: grupo femenino

C M	1			2			3			4			5			6			7			8			9			10		
	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S	C	O	S
A	0,8	0,3	1,4	0,6	0,4	2,1	0,6	0,4	1,4	0,6	0,4	2,1	0,8	0,3	2,8	0,6	0,4	2,1	0,8	0,3	2,1	0,6	0,2	1,4	0,4	0,4	2,8	0,6	0,3	1,4
B	1,0	0,4	3,5	0,6	0,3	2,8	0,6	0,4	2,8	0,4	0,4	2,1	0,8	0,3	2,8	0,6	0,4	1,4	0,8	0,3	2,1	0,6	0,2	1,4	0,4	0,4	2,8	0,6	0,4	3,5
C	0,8	0,3	2,1	0,6	0,3	2,1	0,6	0,4	2,8	0,4	0,4	2,8	0,8	0,3	2,8	0,6	0,3	1,4	0,8	0,3	2,8	0,8	0,3	2,1	0,4	0,4	2,1	0,6	0,3	2,8
D	0,8	0,3	2,1	0,6	0,3	2,1	0,4	0,4	2,8	0,6	0,5	2,8	0,8	0,4	1,4	0,6	0,3	1,4	0,6	0,4	2,8	0,8	0,3	2,1	0,6	0,4	2,1	0,6	0,3	2,8
E	0,6	0,2	1,4	0,8	0,3	2,8	0,4	0,4	2,1	0,6	0,5	2,8	0,8	0,4	1,4	0,8	0,4	2,8	0,8	0,4	2,8	0,4	0,3	2,1	0,6	0,4	2,1	0,6	0,3	2,1
F	0,8	0,4	2,1	0,8	0,4	2,8	0,6	0,4	2,1	0,8	0,4	2,8	0,8	0,4	2,8	0,8	0,4	2,8	0,6	0,4	3,5	0,4	0,3	2,8	0,8	0,3	2,1	0,6	0,4	2,1
G	0,6	0,4	3,5	0,8	0,5	3,5	0,6	0,4	2,8	0,8	0,4	1,4	0,8	0,4	3,5	0,8	0,5	2,1	0,8	0,5	3,5	0,4	0,4	2,8	0,8	0,3	2,8	0,6	0,4	2,8
H	0,8	0,2	1,4	0,6	0,4	3,5	0,8	0,4	2,8	0,8	0,4	1,4	0,8	0,3	3,5	0,8	0,5	2,1	0,8	0,5	2,1	0,8	0,4	2,8	0,8	0,3	2,8	0,6	0,2	2,1
I	0,8	0,4	2,1	0,6	0,3	3,5	0,8	0,4	2,8	1,0	0,4	2,8	0,8	0,3	3,5	1,0	0,4	3,5	1,0	0,4	2,8	0,8	0,4	3,5	0,8	0,4	2,8	1,0	0,4	2,8
J	0,6	0,5	2,1	0,8	0,4	2,1	1,0	0,4	2,8	1,0	0,4	2,8	1,0	0,3	2,8	1,0	0,4	2,1	1,0	0,4	2,1	0,8	0,4	3,5	0,8	0,4	2,8	1,0	0,5	2,8
K	0,6	0,3	2,1	1,0	0,5	3,5	1,0	0,4	3,5	1,0	0,5	1,4	1,0	0,5	2,1	1,0	0,5	2,8	1,0	0,4	3,5	1,0	0,4	2,8	0,8	0,5	2,8	1,0	0,3	2,8
L	0,8	0,4	2,8	1,0	0,3	2,1	1,0	0,4	2,8	1,0	0,5	2,1	1,0	0,4	2,1	1,0	0,3	2,8	1,0	0,4	2,8	1,0	0,4	2,8	0,8	0,5	2,8	1,0	0,4	2,8

Tabla 33. Puntaje total de la prueba de catación: grupo masculino

M C	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Promedio
A	2,6	4,7	2,3	4,0	4,5	3,5	4,7	4,1	4,4	3,3	3,81
B	4,6	4,6	3,4	4,0	4,5	4,6	4,6	4,1	4,4	2,8	4,16
C	3,1	3,3	2,7	3,5	4,5	3,7	4,9	4,6	3,8	3,6	3,77
D	3,0	3,5	3,0	4,4	4,5	4,2	4,0	4,6	3,6	3,8	3,86
E	2,1	3,7	3,8	3,5	4,7	4,4	4,0	4,3	4,5	3,8	3,88
F	3,3	3,8	3,9	3,5	3,8	3,5	4,1	4,8	3,0	3,3	3,70
G	4,5	3,8	4,3	4,5	4,1	4,2	5,0	4,2	3,8	4,8	4,32
H	2,4	3,2	2,8	4,6	4,9	4,0	4,6	3,4	3,1	3,2	3,62
I	3,0	2,5	4,7	3,3	4,9	3,0	3,9	4,7	3,9	3,9	3,78
J	3,3	3,3	3,5	4,1	4,0	3,0	3,5	4,8	4,8	4,9	3,92
K	2,8	3,9	3,3	4,2	5,0	4,8	4,0	3,6	4,7	3,5	3,98
L	3,8	3,9	4,0	4,9	4,7	4,1	4,9	4,2	4,1	4,2	4,28

Tabla 34. Puntaje total de la prueba de catación: grupo femenino

M C	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Promedio
A	2,5	3,1	2,4	3,1	3,9	3,1	3,2	2,2	3,6	2,3	2,94
B	4,9	3,7	3,8	2,9	3,9	2,4	3,2	2,2	3,6	4,5	3,51
C	3,2	3,0	3,8	3,6	3,9	2,3	3,9	3,2	2,9	3,7	3,35
D	3,2	3,0	3,6	3,9	2,6	2,3	3,8	3,2	3,1	3,7	3,24
E	2,2	3,9	2,9	3,9	2,6	4,0	4,0	2,8	3,1	3,0	3,24
F	3,3	4,0	3,1	4,0	4,0	4,0	4,5	3,5	3,2	3,1	3,67
G	4,5	4,8	3,8	2,6	4,7	3,4	4,8	3,6	3,9	3,8	3,99
H	2,4	4,5	4,0	2,6	4,6	3,4	3,4	4,0	3,9	2,9	3,57
I	3,3	4,4	4,0	4,2	4,6	4,9	4,2	4,7	4,0	4,2	4,25
J	3,2	3,3	4,2	4,2	4,1	3,5	3,5	4,7	4,0	4,3	3,9
K	3,0	5,0	4,9	2,9	3,6	4,3	4,9	4,2	4,1	4,1	4,1
L	4,0	3,4	4,2	3,6	3,5	4,1	4,2	4,2	4,1	4,2	3,95

5.15.1 Cálculo estadístico del grado de aceptabilidad. Mediante los datos obtenidos del grado de aceptabilidad, se realizó el análisis estadístico y se determinó, si existe o no diferencia en la aceptabilidad del producto obtenido mediante fermentación, para grupos masculino y femenino. Para realizar este análisis se empleó la prueba de significación t Student, aplicada a muestras pequeñas, es decir $n < 30$; para un nivel de significación $\alpha = 0,05$.

Prueba T Student: Esta prueba se aplicó para la muestra de mayor aceptabilidad, es decir para la muestra G (20°Brix; 3,5% de levadura; pH 3,5).

Tabla 35. Datos de la prueba de catado para la muestra G

CATADOR	GRADO DE ACEPTABILIDAD	
	MASCULINO	FEMENINO
1	4,5	3,3
2	3,8	4,4
3	4,3	4,0
4	4,5	4,2
5	4,1	4,6
6	4,2	4,9
7	5,0	4,2
8	4,2	4,7
9	3,8	4,0
10	4,8	4,2
Promedio	4,32	4,25

Hipótesis: H_0 : ($\mu_m = \mu_f$), la aceptabilidad para los dos grupos (femenino y masculino), es similar

H_1 : ($\mu_m \neq \mu_f$), la aceptabilidad para los dos grupos (masculino y femenino) es diferente.

Si $t_{cal} = t_{0,05}$ se aceptará la hipótesis planteada.

$t_{0,05}$ = valor tabulado, en función de los grados de libertad.

Cálculo de la desviación típica (S_o)

$$S_o^2 = \frac{\sum(X_i - \bar{X}_{im})^2 + \sum(X_j - \bar{X}_{jm})^2}{N_i + N_j} \quad (57)$$

En donde: X_i = puntuación muestral del grupo femenino.

X_j = puntuación muestral del grupo masculino.

X_{im} = puntuación medio muestral grupo femenino.

X_{jm} = puntuación medio muestral grupo masculino.

N_i = número de personas grupo femenino.

N_j = número de personas grupo masculino.

Tabla 36. Datos para el cálculo de S_o

N	X_i G. femenino	$(X_i - \bar{X})^2$	X_i G. masculino	$(X_i - \bar{X})^2$
1	3,3	0,9025	4,5	0,0324
2	4,4	0,0225	3,8	0,2704
3	4,0	0,0625	4,3	0,0004
4	4,2	0,0025	4,5	0,0324
5	4,6	0,1225	4,1	0,0484
6	4,9	0,4225	4,2	0,0144
7	4,2	0,0025	5,0	0,4624
8	4,7	0,2025	4,2	0,0144
9	4,0	0,0625	3,8	0,2704
10	4,2	0,0025	4,8	0,2304
\bar{X}	4,25	0,1805	4,32	0,1376

$$\sum (X_i - X_{im})^2 = 0,1805$$

$$\sum (X_i - X_{jm})^2 = 0,1376$$

$$S_o^2 = \frac{0,1805 + 0,1376}{10 + 10 - 2}$$

$$S_o^2 = 0,01767$$

$$S_o = 0,1329$$

Cálculo de t_{cal} :

$$t_{cal} = \frac{X_{im} - X_{jm}}{S_o \left(\frac{1}{N_i} + \frac{1}{N_j} \right)^{1/2}} \quad (58)$$

$$t_{cal} = \frac{4,25 - 4,32}{0,1329 \left(\frac{1}{10} + \frac{1}{10} \right)^{1/2}}$$

$$t_{cal} = 1,1778$$

$$g = N_i + N_j - 2 \quad (59)$$

$$g = 10 + 10 - 2 = 18$$

La tabla para la distribución T Student se encuentra en el Anexo H, y mediante esta se obtiene:

Para 18 grados de libertad $\longrightarrow t_{0,05} = 2,100922$

$$t_{cal} < t_{0,05}$$

En consecuencia se acepta la hipótesis:

Ho: (hm=hf), la aceptabilidad para los dos grupos (femenino y masculino), es similar.

5.16 Cálculo estadístico ANOVA para determinar la influencia de los tres factores en el rendimiento del etanol obtenido.

En este análisis se decidió correr un experimento factorial 3x2x2, con un total de 24 corridas. Los resultados de los rendimientos obtenidos para cada tratamiento y su respectiva réplica, se presenta a continuación:

Tabla 37. Diseño factorial para análisis de ANOVA

FACTORES	X1		X2		X3	
	Y1	Y2	Y1	Y2	Y1	Y2
C1	48,4	52,8	37,2	55,0	43,8	57,6
	44,0	42,0	40,0	47,0	35,8	49,4
C2	56,8	43,01	44,8	38,8	44,4	53,0
	50,0	39,0	51,6	45,4	31,6	42,2

Tabla 38. Niveles de prueba para cada factor

Factor	U. originales			Unidades codificadas		
	Bajo	Medio	Alto	Bajo	Medio	Alto
X: Grados Brix	18	20	22	-1	0	1
Y: % de levadura	2,5	-	3,5	-1	-	1
Z: pH	3,5	-	4,5	-1	-	1

Factor X: Grados brix

Factor Y: Porcentaje de levadura

Factor Z: pH

Los niveles de prueba para cada factor, tanto en unidades originales como en unidades codificadas, se muestran en la siguiente tabla:

Las hipótesis de interés para este modelo factorial son:

1) H_0 : Efecto de la concentración de Grados Brix(X) = 0

2) H_A : Efecto de la concentración de Grados Brix(X) \neq 0

1) H_0 : Efecto de la concentración de Levadura (Y) = 0

2) H_A : Efecto de la concentración de levadura (Y) \neq 0

1) H_0 : Efecto del pH (Z) = 0

2) H_A : Efecto del pH(Z) \neq 0

1) H_0 : Grados Brix X Concentración de Levadura (XY) = 0

2) H_A : Grados Brix X Concentración de Levadura (XY) \neq 0

1) H_0 : Grados Brix X pH (XZ) = 0

2) H_A : Grados Brix X pH (XZ) \neq 0

1) H_0 : Concentración de Levadura X pH = 0

2) H_A : Concentración de Levadura X pH \neq 0

1) H_A : Grados Brix X Conc. de Levadura X pH = 0

2) H_A : Grados Brix X Conc. de Levadura X pH \neq 0

Estas hipótesis se prueban mediante un análisis ANOVA. Se comienza por determinar las sumas de los cuadrados de cada efecto:

$$SC_T = \sum_{i=1}^x \sum_{j=1}^y \sum_{k=1}^z \sum_{l=1}^n Y_{ijkl}^2 - \frac{Y_{....}^2}{N} \quad (60)$$

Donde N= abcn es el total de observaciones en el experimento. La suma de cuadrados de efectos son:

a) Efecto de los grados brix. (X)

$$SC_X = \sum_{i=1}^x \frac{Y_{i...}^2}{yzn} - \frac{Y_{....}^2}{N} \quad (61)$$

$$SC_X = \frac{(376,01)^2 + (359,8)^2 + (357,8)^2}{2 \times 2 \times 2} - \frac{1093,61^2}{3 \times 2 \times 2 \times 2}$$

$$SC_X = 24,932$$

b) Efecto de la concentración de levadura (Y)

$$SC_Y = \sum_{j=1}^y \frac{Y_{.j...}^2}{xzn} - \frac{Y_{....}^2}{N} \quad (62)$$

$$SC_Y = \frac{(528,4)^2 + (565,21)^2}{3 \times 2 \times 2} - \frac{1093,61^2}{3 \times 2 \times 2 \times 2}$$

$$SC_Y = 56,457$$

c) Efecto del pH (Z)

$$SC_Z = \sum_{k=1}^z \frac{Y_{..k...}^2}{xyn} - \frac{Y_{....}^2}{N} \quad (63)$$

$$SC_Z = \frac{(553)^2 + (540,61)^2}{3 \times 2 \times 2} - \frac{1093,61^2}{3 \times 2 \times 2 \times 2}$$

$$SC_Z = 6,396$$

d) Efecto XY

$$SC_{XY} = \sum_{i=1}^x \sum_{j=1}^y \frac{Y_{ij...}^2}{zn} - \frac{Y_{....}^2}{N} - SC_X - SC_Y \quad (64)$$

$$SC_{XY} = \frac{(199,2)^2 + (176,81)^2 + (173,6)^2 + (186,2)^2 + (155,6)^2 + (202,2)^2}{2 \times 2} - \frac{1093,61^2}{3 \times 2 \times 2 \times 2} - 24,932 - 56,457$$

$$SC_{XY} = 297,497$$

e) Efecto XZ

$$SC_{XZ} = \sum_{i=1}^x \sum_{k=1}^z \frac{Y_{ik...}^2}{yn} - \frac{Y_{...}^2}{N} - SC_X - SC_Z \quad (65)$$

$$SC_{XZ} = \frac{(187,2)^2 + (188,81)^2 + (179,2)^2 + (180,6)^2 + (186,6)^2 + (171,2)^2}{2 \times 2} - \frac{1093,61^2}{3 \times 2 \times 2 \times 2} - 24,932 - 6,396$$

$$SC_{XZ} = 23,818$$

f) Efecto YZ

$$SC_{YZ} = \sum_{j=1}^y \sum_{k=1}^z \frac{Y_{.jk...}^2}{xn} - \frac{Y_{...}^2}{N} - SC_Y - SC_Z \quad (66)$$

$$SC_{YZ} = \frac{(249,2)^2 + (303,8)^2 + (279,2)^2 + (261,41)^2}{3 \times 2} - \frac{1093,61^2}{3 \times 2 \times 2 \times 2} - 56,457 - 6,396$$

$$SC_{YZ} = 218,347$$

g) Efecto XYZ

$$SC_{XYZ} = \sum_{i=1}^x \sum_{j=1}^y \sum_{k=1}^z \frac{Y_{ijk...}^2}{n} - \frac{Y_{...}^2}{N} - SC_{xy} - SC_{xz} - SC_{yz} - SC_x - SC_y - SC_z \quad (67)$$

$$SC_{XYZ} = \frac{(92,4)^2 + (94,8)^2 + (77,2)^2 + (102)^2 + \dots + (95,2)^2}{2} - \frac{1093,61^2}{3 \times 2 \times 2 \times 2} - 297,49 - 23,818 - 218,347 - 24,932 - 56,457 - 6,396$$

$$SC_{XYZ} = 53,595$$

Cálculo de la suma de cuadrados total

$$SC_T = (48,4^2 + 44^2 + 56,8^2 + 50,0^2 + \dots + 42,2^2) - \frac{1093,61^2}{3 \times 2 \times 2 \times 2}$$

$$SC_T = 1066,88$$

Cálculo de la suma de cuadrados del error.

$$SC_E = SC_T - SC_X - SC_Y - SC_Z - SC_{XY} - SC_{XZ} - SC_{YZ} - SC_{XYZ} \quad (68)$$

$$SC_E = 1066,88 - 24,932 - 56,457 - 6,396 - 297,497 - 23,818 - 218,347 - 53,95$$

$$SC_E = 385,84$$

Determinación de los cuadrados medios.: Se obtienen dividiendo las sumas de cuadrados para los grados de libertad:

$$CM = \frac{SC}{GL} \quad (69)$$

$$CM_X = \frac{24,932}{3 - 1} = 12,466$$

$$CM_Y = \frac{56,457}{2 - 1} = 56,457$$

$$CM_Z = \frac{6,396}{2 - 1} = 6,396$$

$$CM_{XY} = \frac{SC_{XY}}{(x-1)(y-1)} \quad (70)$$

$$CM_{XY} = \frac{297,497}{(3 - 1)(2 - 1)} = 148,749$$

$$CM_{XZ} = \frac{SC_{XZ}}{(x-1)(z-1)} \quad (71)$$

$$CM_{XZ} = \frac{23,818}{(3 - 1)(2 - 1)} = 11,909$$

$$CM_{YZ} = \frac{SC_{YZ}}{(y-1)(z-1)} \quad (72)$$

$$CM_{YZ} = \frac{218,347}{(2 - 1)(2 - 1)} = 218,347$$

$$CM_{XYZ} = \frac{SC_{XYZ}}{(x-1)(y-1)(z-1)} \quad (73)$$

$$CM_{XYZ} = \frac{53,595}{(3-1)(2-1)(2-1)} = 26,798$$

$$CM_E = \frac{SC_E}{xyz(n-1)} \quad (74)$$

$$CM_E = \frac{439,433}{3 \times 2 \times 2(2-1)} = 36,619$$

Obtención de los estadísticos de prueba con distribución F.

$$F_O = \frac{CM}{CM_E} \quad (75)$$

Para X: $F_O = \frac{12,466}{36,619} = 0,340$

Para Y: $F_O = \frac{56,457}{36,619} = 1,542$

Para Z: $F_O = \frac{6,396}{36,619} = 0,175$

Para XY: $F_O = \frac{148,749}{36,619} = 4,062$

Para XZ: $F_O = \frac{11,909}{36,619} = 0,325$

Para YZ: $F_O = \frac{218,347}{36,619} = 5,963$

Para XYZ: $F_O = \frac{26,798}{36,619} = 0,732$

**Tabla 39. ANOVA completo para análisis de factores
incidentes en el rendimiento del etanol**

FV	SC	GL	CM	F_o
X: Brix	24,932	2	12,466	0,340
Y: %Levadura	56,457	1	56,457	1,542
Z: pH	6,396	1	6,396	0,175
XY	297,497	2	148,749	4,062
XZ	23,818	2	11,909	0,325
YZ	218,347	1	218,347	5,963
XYZ	53,595	2	26,798	0,732
Error	385,84	12	36,619	
Total	1066,88	23		

Para rechazar o aceptar las hipótesis planteadas, tomamos un nivel de $\alpha=5\%$, mediante los grados de libertad correspondientes a CM y CME se encuentra el valor crítico de F de la tabla que se encuentra en el Anexo G para esta distribución; y comparamos con el F_o obtenido en la experimentación para cada efecto.

- **Para X:** GL numerador =2; GL denominador = 12; por lo tanto el valor crítico de F que se obtiene de la tabla es: $F_{0,05,2,12} = 3,89$

Regla de decisión: No rechazar la hipótesis si $F \leq 3,89$. Rechazar la hipótesis nula si $F > 3,89$

$0,340 < 3,89$ No se rechaza la hipótesis.

- **Para Y:** GL numerador = 1; GL denominador = 12; $F_{0,05,1,12} = 4,75$

Regla de decisión: No rechazar la hipótesis si $F \leq 4,75$. Rechazar la hipótesis nula si

$$F > 4,75$$

1,542 < 4,75 No se rechaza la hipótesis.

- **Para Z:** GL numerador = 1; GL denominador = 12; $F_{0,05,1,12} = 4,75$
Regla de decisión: No rechazar la hipótesis si $F \leq 4,75$. Rechazar la hipótesis nula si $F > 4,75$
 $0,175 < 4,75$ No se rechaza la hipótesis.
- **Para XY:** GL numerador = 2; GL denominador = 12; $F_{0,05,2,12} = 3,89$
Regla de decisión: No rechazar la hipótesis si $F \leq 3,89$. Rechazar la hipótesis nula si $F > 3,89$
 $4,062 > 3,89$ Se rechaza la hipótesis.
- **Para XZ:** GL numerador = 2; GL denominador = 12; $F_{0,05,2,12} = 3,89$
Regla de decisión: No rechazar la hipótesis si $F \leq 3,89$. Rechazar la hipótesis nula si $F > 3,89$
 $0,325 < 3,89$ No se rechaza la hipótesis.
- **Para YZ:** GL numerador = 1; GL denominador = 12; $F_{0,05,1,12} = 4,75$
Regla de decisión: No rechazar la hipótesis si $F \leq 4,75$. Rechazar la hipótesis nula si $F > 4,75$
 $5,963 > 4,75$ Se rechaza la hipótesis.
- **Para XYZ:** GL numerador = 2; GL denominador = 12; $F_{0,05,2,12} = 3,89$
Regla de decisión: No rechazar la hipótesis si $F \leq 3,89$. Rechazar la hipótesis nula si $F > 3,89$
 $0,732 < 3,89$ No se rechaza la hipótesis.

Con este análisis se puede observar que las combinaciones que afectan el rendimiento del producto obtenido son XY y YZ, es decir las interacciones de Grados brix con pH y de grados brix con el porcentaje de levadura, los demás factores se consideran no influyentes en el proceso, es por ello que no se rechazaron sus correspondientes hipótesis.

Ahora se debe analizar que combinación es la que más incidencia tiene en el proceso de fermentación alcohólica de la pomarroja.

Los niveles correspondientes para la interacción XY son:

(-1)X con (-1) Y	(-1) X con (1) Y
(0) X con (-1) Y	(0) X con (1) Y
(1) X con (-1) Y	(1) X con (1) Y

Mediante el gráfico puede determinarse los puntos para obtener mayor rendimiento:

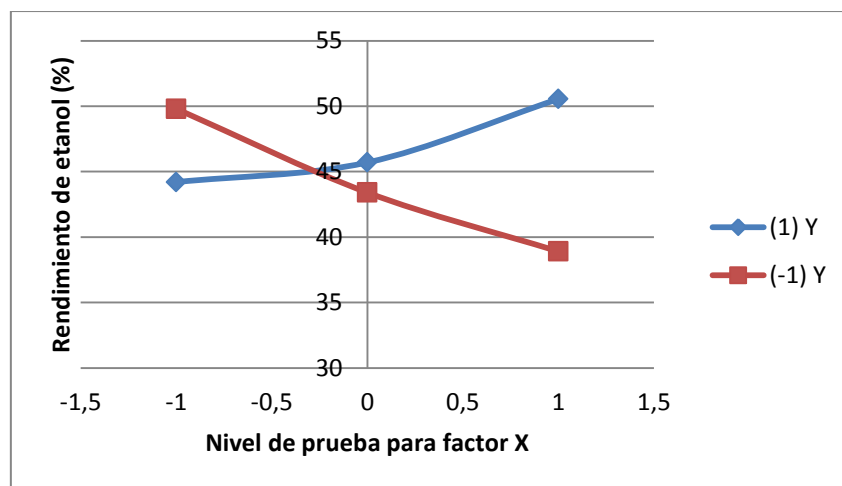


Gráfico 33. Niveles de interacción XY

Como se observa la curva azul representa el nivel para Y (1) significa nivel alto, para nuestro caso $Y_2 = 3,5\%$ de levadura y para X en el nivel (1) se obtiene mayor rendimiento, por lo que la mejor condición de grados brix es $X = 22^\circ\text{Brix}$.

Ahora se analiza la interacción entre YZ, realizando el mismo procedimiento:

Los niveles correspondientes para la interacción YZ son:

(-1)Y con (-1) Z	(-1) Y con (1) Z
(1) Y con (-1)Z	(1) Y con (1) Z

Mediante el gráfico puede determinarse los puntos para obtener mayor rendimiento:

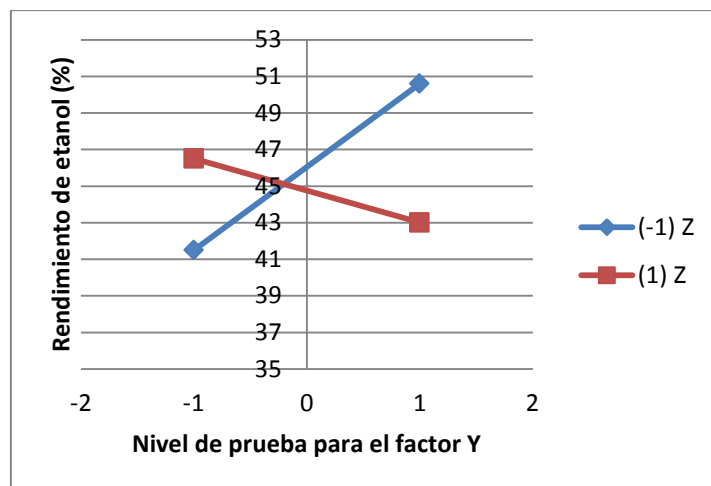


Gráfico 34. Niveles de interacción YZ

Se puede observar que la curva azul representa al efecto que realiza el nivel bajo de Z, mientras más alto sea, se obtiene un mejor rendimiento, por lo tanto para este caso (-1) Z = 3,5, es decir que la mejor condición de pH=3,5.

6 DISCUSIÓN

- Para realizar el presente trabajo, se tomó la influencia de tres factores sobre la fermentación del zumo de pomarrosa: grados brix, porcentaje de levadura y pH, los valores de estas variables fueron escogidos en base a realización de ensayos previos al desarrollo de la experimentación, y de acuerdo a la literatura investigada se tomaron rangos de: Grados Brix: 12 a 22, porcentaje de Levadura: 2% a 4% y pH: 3 a 5, obteniendo mejores resultados con los valores que se encuentran especificados en la Figura 12.
- De acuerdo a bibliografía investigada, Ward, O.P, (pag 199), afirma que la temperatura óptima para que las levaduras conviertan azúcar en etanol es de 34°C, es por ello que se decidió tomar este valor y mantenerlo constante para todos los ensayos de fermentación realizados.
- Para cada toma de muestras de los reactores contruidos manualmente fue necesario sacarlos de la estufa, lo que incidió en que se produzca un pequeño cambio de temperatura al sistema, esto pudo incidir en el crecimiento de la levadura, y por ende en la eficiencia para producir etanol.
- Para la obtención del etanol, a parte de los factores que se analizaron en este trabajo, es necesario tomar en cuenta la madurez de la fruta, ya que esto también determina la cantidad de azúcares necesarios para su conversión en alcohol. La pomarrosa es una fruta muy perecedera pero mientras más madura esté, se obtiene un zumo más rico en azúcares fermentables.
- En este experimento fue necesario realizar una evaporación del zumo para llegar a los grados brix propuestos en el diseño experimental, es por esta razón que no sería tan factible obtener etanol a partir de esta fruta, por el costo adicional que representaría el proceso de evaporación, además se necesitaría mayor cantidad de fruta para obtener la mitad o un poco menos de zumo concentrado, dependiendo de la concentración inicial de azúcares.

- La formación de etanol se monitoreó mediante técnica HPLC, con la ventaja de usar pequeñas cantidades de muestras, sin necesidad de que estas estén destiladas para ser ingresadas en el equipo, y pudiendo obtener el contenido alcohólico de las muestras que se deseen.
- El método que se usó para determinar el crecimiento de biomasa es poco preciso, por ello es necesario poseer equipos que nos ayuden a determinar de una forma más directa este parámetro, en la actualidad se usa la transmisión y dispersión de la luz para recuentos microbianos, métodos que están incluidos en nefelometría y turbidimetría etc. Aun así, se pudo evidenciar como la levadura *Saccharomyces cerevisiae* una vez adaptada al medio fue capaz de incrementar su biomasa a través del consumo de sustratos y formación de etanol.
- De acuerdo a los resultados obtenidos se puede decir que el periodo de adaptación de la levadura fue corto y empezó a formar rápidamente el etanol, mediante el consumo del sustrato, esto también pudo evidenciarse por el gas desprendido en los reactores contruidos manualmente; lamentablemente no se pudo determinar con precisión el tiempo en el cual concluyó el proceso fermentativo, aunque, de acuerdo a los resultados observados, a las doce horas de fermentación se obtuvieron datos de formación de etanol casi constantes, que los monitoreados a las 11 horas.
- Mediante pruebas de catación se determinó la bebida más aceptada, y se tomaron estas condiciones para realizar el experimento en un biorreactor, al realizar la comparación de los dos alcoholes obtenidos, el rendimiento de etanol es mayor cuando se usa el biorreactor, ya que las condiciones requeridas son controladas automáticamente, lo que no se logra con los reactores contruidos manualmente. La hermeticidad es un factor importante para el crecimiento de las levaduras en medio anaerobio, y esto se logró completamente haciendo uso del biorreactor.
- Otro factor importante que incide en el biorreactor es la agitación, con ello se consigue que las células no se sedimenten y se puedan obtener datos de biomasa más reales, además propicia un contacto eficiente con el sustrato, pero en este caso se evidenció formación de espuma, que pudo haber incidido en los resultados del coeficiente de rendimiento de biomasa obtenido a partir del sustrato consumido para el caso G, ya que este valor comparado con el rendimiento obtenido del reactor contruido manualmente es menor. El exceso de la misma puede complicar la circulación de los gases y por ende su salida, puede ser un peligro de contaminación, y puede afectar al intercambio de masa y calor.

- Los rendimientos del etanol de la bebida alcohólica obtenida para la mayoría de los casos son menores al valor teórico, dando como resultado una eficiencia del proceso fermentativo menor al 50% en la mayoría de los casos, lo que indica que no se han consumido los azúcares reductores en su totalidad, es necesario incrementar el tiempo de reacción para el aprovechamiento total de los azúcares fermentables, como se cita en ciertas literaturas que la fermentación se la realiza por lo menos por 48 horas, con ello se obtendrían mejores rendimientos.

7 CONCLUSIONES

- Se determinó que en el proceso de fermentación alcohólica no todos los azúcares fermentables fueron consumidos por las levaduras, la eficiencia se encuentra menor al 50% en la mayoría de los casos, en un tiempo de fermentación de 12 horas.
- La pomarrosa tiene una cantidad de azúcares fermentables para obtener etanol pero no los suficientes para obtener un buen rendimiento, es por ello que el proceso de evaporación fue un factor determinante para aumentar rendimientos.
- La eficiencia del proceso fermentativo determinado para el caso G del experimento realizado en el biorreactor es mayor que para el resultado que se obtuvo de los reactores construidos manualmente, esto indica que un adecuado control de temperatura y pH conlleva a obtener mejores resultados.
- El grado alcohólico antes y después de la destilación para el CASO G es mayor para el experimento realizado en el biorreactor que para el que se realizó en los reactores construidos manualmente, con esto podemos concluir que el cambio de pH en el transcurso de la fermentación producido por el metabolismo de los microorganismos afecta el proceso fermentativo en los reactores construidos manualmente, lo que no sucede con el biorreactor en el que se puede controlar esta variable.
- Del análisis de ANOVA realizado se concluye que las interacciones que influyen en el rendimiento del etanol son: XY, y YZ, es decir concentración de grados brix con porcentaje de levadura y porcentaje de levadura con pH.
- Del análisis estadístico de las interacciones se concluye que las mejores condiciones a las que debe estar el zumo de pomarrosa inicialmente para obtener un buen rendimiento son: concentración de sustrato: 22° brix, 3,5% de levadura y pH = 3,5, condiciones que corresponden al caso K.

- De acuerdo a los resultados estadísticos obtenidos de las pruebas de catación realizadas se concluye que no hay diferencia entre la muestra escogida por el grupo femenino y la muestra escogida por el grupo masculino.
- De los gráficos de concentración de biomasa, etanol y sustrato en función del tiempo se puede concluir que para el proceso de fermentación alcohólica, a medida que se va consumiendo el sustrato, se observa el aumento de células y la aparición de etanol.
- La fermentación alcohólica del zumo de pomarrosa se ajusta a una cinética de primer orden, ya que a concentraciones bajas de sustrato existe una dependencia aproximadamente lineal de la velocidad de reacción respecto a la concentración de sustrato.

8 RECOMENDACIONES

- Usar un antiespumante en el biorreactor para evitar problemas que puedan surgir por acumulación de espuma.
- La fruta debe estar bien madura para obtener el zumo, por el mayor porcentaje de azúcares fermentables que contiene al encontrarse en este estado.
- Para determinar el crecimiento microbiano es necesario hacer uso de métodos confiables y más precisos que el que se usó en esta investigación.
- Realizar un estudio económico ayudaría a determinar si realmente el proceso de evaporación incrementaría en forma considerable el costo en el proceso de obtención de etanol.
- Es importante seguir el protocolo de bioseguridad para evitar contaminaciones de las cepas en estudio y por ende resultados erróneos.
- Se recomienda realizar la fermentación por un tiempo de hasta 48 horas, y tomar en cuenta el cambio de temperatura para determinar su influencia en el proceso.
- Se debería monitorear la cantidad de azúcares reductores del proceso fermentativo por técnica HPLC, ya que de esta manera sabríamos cuál es el sustrato limitante para el proceso.

CITAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] HAENH, Hugo, “Bioquímica de las Fermentaciones”, Primera Edición, Editorial Aguilar, Madrid, 1956. p. 204.
- [2] LEVENSPIEL, Octave, “Ingeniería de las Reacciones Químicas”, Tercera Edición, Editorial Limusa, México 2004, p.611.
- [3] WARD, O.P. “Biotecnología de la fermentación”. Editorial Acribia, S.A, Segunda Edición, Zaragoza, 1991. p.231.
- [4] DORAN, Pauline, “Principios de Ingeniería de los Bioprocesos”, Editorial Acribia, S.A, España, 1998. p. 57.
- [5] MERCHUK, José, “Microbiología Industrial”, Editorial Limusa, Segunda Edición, España 1999. p. 33.
- [6] JAGNOW, H. “ Biotecnología. Introducción con experimentos modelo”. Editorial Acribia, S.A. Primera Edición, Zaragoza, 1991. p. 142
- [7] Ibid [6], p. 147
- [8] MERCHUK, José, “Microbiología Industrial”, Editorial Limusa, Segunda Edición, España 1999. p.342
- [9] SCRAGG, Alan; “Biotecnología para ingenieros, sistemas biológicos en procesos tecnológicos”, Editorial Limusa, Primera Edición, México DF, 1997, p.132
- [10] DORAN, Pauline, “Principios de Ingeniería de los Bioprocesos”, Editorial Acribia, S.A, España, 1998. p.279
- [11]Ibid [10], p. 28.

- [12] DORAN, Pauline, “Principios de Ingeniería de los Bioprocesos”, Editorial Acribia, S.A, España, 1998. p. 279
- [13]Ibid [12], p.281.
- [14]USSEGLIO, L. “Química Enológica”. Editorial Mundi-Prensa, Segunda Edición, Madrid, 1998. p. 216
- [15]SCRAGG, Alan; “Biotecnología para ingenieros, sistemas biológicos en procesos tecnológicos”, Editorial Limusa, Primera Edición, México DF, 1997, p.290
- [16] SOBERÓN Francisco, “La ingeniería genética y la nueva biotecnología”, Primera Edición, Editorial ISBN, México, D.F, 1996. p. 50.
- [17]LEVENSPIEL, Octave, “Ingeniería de las Reacciones Químicas”, Tercera Edición, Editorial Limusa, México 2004, p. 162.
- [18]TODD, Smith. “Manual de Cultivo de Especies Frutales Exóticas”, Fundación Alternativa para el Desarrollo Sostenible del Trópico, [en línea] Bogotá, 2005. p. 108, [Fecha de Consulta: 13 de Noviembre del 2012]. Disponible en <http://www.altropico.org.ec/10.pdf>
- [19]Ibid [18]
- [20]General Public License, “Pomarrosa”, [en línea], 2007. [Fecha de consulta: 22 de Enero de 2013], Disponible en: <http://www.sabelotodo.org/agricultura/frutales/pomarosa.html>
- [21]GONZÁLEZ, J.: “Explicación Etimológica de las Plantas de la Selva”, Flora Digital de la Selva, Organización para Estudios Tropicales, Guatemala, 2007. p.16.
- [22]TODD, S. “Manual de Cultivo de Especies Frutales Exóticas”, Fundación Alternativa para el Desarrollo Sostenible del Trópico, (en línea). Bogotá, 2005. p. 108. [Fecha de Consulta: 13 de Noviembre del 2012]. Disponible en <http://www.altropico.org.ec/10.pdf>
- [24] MENDOZA, Gilberto. “Compendio de Mercadeo de Productos Agropecuarios, Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA)”, (en línea). San José Costa Rica, 1991. p. 22. [Fecha de consulta: 22 de Enero del 2013], Disponible en

http://books.google.com.ec/books/about/Compendio_de_mercadeo_de_productos_agrop.html?id=YNyKAAAACAAJ&redir_esc=y

- [25]RENTERÍA, Jorge. Plan de manejo para la erradicación de *Syzygium jambos* (L.) Alston, (Myrtaceae), especie invasora de limitada distribución en la isla Floreana. (en línea) Galápagos- Ecuador, 2008. p. 56. [Fecha de consulta: 12 de Febrero del 2013], Disponible en http://www.issg.org/database/species/reference_files/Renteria_et al2007.pdf

BIBLIOGRAFÍA

- ALLEN, L. “Estadística aplicada a los negocios y la economía”, Tercera Edición, Editorial McGraw-Hill, Bogotá, Colombia, 2003. 123 p.
- ANDREWS, Donald. “Química Fundamental”, Segunda Edición, Editorial LimusaWiley S.A. México, 1968. 350 p.
- DORAN, Pauline, “Principios de Ingeniería de los Bioprocesos”, Editorial Acribia, S.A, España, 1998. 385 p.
- GONZÁLEZ, J.: “Explicación Etimológica de las Plantas de la Selva”, Flora Digital de la Selva, Organización para Estudios Tropicales, (en línea). Guatemala, 2007. [Fecha de Consulta: 13 de Noviembre del 2012]. Disponible en <http://sura.ots.ac.cr/local/lorula3/docs/ETIMOLOGIA.pdf>.
- GUTIÉRREZ, Humberto, “Análisis y diseño de experimentos”, Segunda Edición, Editorial McGraw-Hill, México D.F, 2008. 545 p.
- HAENH, Hugo, “Bioquímica de las Fermentaciones”, Primera Edición, Editorial Aguilar, Madrid, 1956. 290 p.
- JAGNOW, H. “ Biotecnología. Introducción con experimentos modelo”. Editorial Acribia, S.A. Primera Edición, Zaragoza, 1991. 387 p.
- LEVENSPIEL, Octave, “Ingeniería de las Reacciones Químicas”, Tercera Edición, Editorial Limusa, México 2004. 669 p.
- MENDOZA, Gilberto. “Compendio de Mercadeo de Productos Agropecuarios, Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA)”, (en línea). San José Costa Rica,

1991. [Fecha de consulta: 22 de Enero del 2013], Disponible en http://books.google.com.ec/books/about/Compendio_de_mercadeo_de_productos_agrop.htm?id=YNyKAAAACAAJ&redir_esc=y.
- MERCHUK, José, “Microbiología Industrial”, Editorial Limusa, Segunda Edición, España 1999. 103 p.
 - General Public License “Pomarrosa”, [en línea], 2007. [Fecha de consulta: 22 de Enero de 2013], Disponible en: <http://www.sabelotodo.org/agricultura/frutales/pomarrosa.html>.
 - RENTERÍA, Jorge. Plan de manejo para la erradicación de *Syzygium jambos* (L.) Alston, (Myrtaceae), especie invasora de limitada distribución en la isla Floreana. (en línea) Galápagos- Ecuador, 2008. [Fecha de consulta: 12 de Febrero del 2013], Disponible en http://www.issg.org/database/species/reference_files/Renteria_etal2007.pdf
 - SCRAGG, Alan. “Biotecnología para ingenieros, sistemas biológicos en procesos tecnológicos”, Editorial Limusa, Primera Edición, México DF, 1997. 410 p.
 - STRYER, L. “Bioquímica”, Segunda Edición, Editorial Reverté, USA, 1993. 230 p.
 - TODD, Smith. “Manual de Cultivo de Especies Frutales Exóticas”, Fundación Alternativa para el Desarrollo Sostenible del Trópico, [en línea] Bogotá, 2005. [Fecha de Consulta: 13 de Noviembre del 2012]. Disponible en <http://www.altropico.org.ec/10.pdf>
 - USSEGLIO, L. “Química Enológica”. Editorial Mundi-Prensa, Segunda Edición, Madrid, 1998. 170 p.
 - WARD, O.P, “Biotecnología de la Fermentación”, Primera edición, Editorial Acribia S.A., Zaragoza, 1991. 415 p.

ANEXOS

Anexo A



Figura A. Experimento realizado en recipientes plásticos

Anexo B



Figura B. Equipo Cromatográfico (HPLC) usado en la medición de etanol

Anexo C



Figura C.1. Determinación de azúcares reductores



Figura C.2. Titulador Karl Fischer para determinar azúcares reductores

Anexo D



Figura D.1. Activación de la levadura *Saccharomyces Cerevisiae*



Figura D.2. Activación de la levadura *Saccharomyces Cereviseae* en estufas a 28°C

Anexo E



Figura E. Fermentación realizada en el biorreactor

Anexo F



Figura F. Destilación del zumo fermentado

Anexo G

	$F_{0.95}; \alpha = 0.05$								
Grados de libertad del denominador	Grados de libertad del numerador								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39
21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34
23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30
25	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28
26	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27
27	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.46	2.37	2.31	2.25
28	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.45	2.36	2.29	2.24
29	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12
60	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37	2.25	2.17	2.10	2.04
120	3.92	3.07	2.68	2.45	2.29	2.18	2.09	2.02	1.96
∞	3.84	3.00	2.61	2.37	2.21	2.10	2.01	1.94	1.88

	$F_{0.95}; \alpha = 0.05$									
Grados de libertad del denominador	Grados de libertad del numerador									
	10	12	15	20	24	30	40	60	120	∞
1	241.88	243.91	245.95	248.01	249.05	250.10	251.14	252.20	253.25	254.31
2	19.40	19.41	19.43	19.45	19.45	19.46	19.47	19.48	19.49	19.50
3	8.79	8.74	8.70	8.66	8.64	8.62	8.59	8.57	8.55	8.53
4	5.96	5.91	5.86	5.80	5.77	5.75	5.72	5.69	5.66	5.63
5	4.74	4.68	4.62	4.56	4.53	4.50	4.46	4.43	4.40	4.37
6	4.06	4.00	3.94	3.87	3.84	3.81	3.77	3.74	3.70	3.67
7	3.64	3.57	3.51	3.44	3.41	3.38	3.34	3.30	3.27	3.23
8	3.35	3.28	3.22	3.15	3.12	3.08	3.04	3.01	2.97	2.93
9	3.14	3.07	3.01	2.94	2.90	2.86	2.83	2.79	2.75	2.71

Figura G.1. Tablas de los puntos críticos al 5% de la distribución F.

Grados de libertad del denominador	$F_{0.95}; \alpha = 0.05$									
	Grados de libertad del numerador									
	10	12	15	20	24	30	40	60	120	∞
10	2.98	2.91	2.85	2.77	2.74	2.70	2.66	2.62	2.58	2.54
11	2.85	2.79	2.72	2.65	2.61	2.57	2.53	2.49	2.45	2.40
12	2.75	2.69	2.62	2.54	2.51	2.47	2.43	2.38	2.34	2.30
13	2.67	2.60	2.53	2.46	2.42	2.38	2.34	2.30	2.25	2.21
14	2.60	2.53	2.46	2.39	2.35	2.31	2.27	2.22	2.18	2.13
15	2.54	2.48	2.40	2.33	2.29	2.25	2.20	2.16	2.11	2.07
16	2.49	2.42	2.35	2.28	2.24	2.19	2.15	2.11	2.06	2.01
17	2.45	2.38	2.31	2.23	2.19	2.15	2.10	2.06	2.01	1.96
18	2.41	2.34	2.27	2.19	2.15	2.11	2.06	2.02	1.97	1.92
19	2.38	2.31	2.23	2.16	2.11	2.07	2.03	1.98	1.93	1.88
20	2.35	2.28	2.20	2.12	2.08	2.04	1.99	1.95	1.90	1.84
21	2.32	2.25	2.18	2.10	2.05	2.01	1.96	1.92	1.87	1.81
22	2.30	2.23	2.15	2.07	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84	1.78
23	2.27	2.20	2.13	2.05	2.01	1.96	1.91	1.86	1.81	1.76
24	2.25	2.18	2.11	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84	1.79	1.73
25	2.24	2.16	2.09	2.01	1.96	1.92	1.87	1.82	1.77	1.71
26	2.22	2.15	2.07	1.99	1.95	1.90	1.85	1.80	1.75	1.69
27	2.20	2.13	2.06	1.97	1.93	1.88	1.84	1.79	1.73	1.67
28	2.19	2.12	2.04	1.96	1.91	1.87	1.82	1.77	1.71	1.65
29	2.18	2.10	2.03	1.94	1.90	1.85	1.81	1.75	1.70	1.64
30	2.16	2.09	2.01	1.93	1.89	1.84	1.79	1.74	1.68	1.62
40	2.08	2.00	1.92	1.84	1.79	1.74	1.69	1.64	1.58	1.51
60	1.99	1.92	1.84	1.75	1.70	1.65	1.59	1.53	1.47	1.39
120	1.91	1.83	1.75	1.66	1.61	1.55	1.50	1.43	1.35	1.25
∞	1.83	1.75	1.67	1.57	1.52	1.46	1.39	1.32	1.22	1.00

Figura G.2. Puntos críticos al 5% de la distribución F.

Anexo H

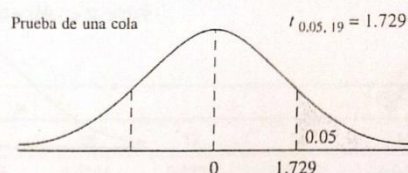
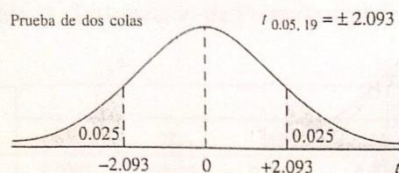


Tabla F Distribución t

	0.900	0.700	0.500	0.300	0.200	0.100	0.050	0.020	0.010	Valor α	Prueba de dos colas
	0.100	0.300	0.500	0.700	0.800	0.900	0.950	0.980	0.990	IC	
	0.450	0.350	0.250	0.150	0.100	0.050	0.025	0.010	0.005	Valor α	Prueba de una cola
	0.550	0.650	0.750	0.850	0.900	0.950	0.975	0.990	0.995	IC	
g.l.	Valores de t										
1	0.158	0.510	1.000	1.963	3.078	6.314	12.706	31.821	63.657		
2	0.142	0.445	0.816	1.386	1.886	2.920	4.303	6.965	9.925		
3	0.137	0.424	0.765	1.250	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841		
4	0.134	0.414	0.741	1.190	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604		
5	0.132	0.408	0.727	1.156	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032		
6	0.131	0.404	0.718	1.134	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707		
7	0.130	0.402	0.711	1.119	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499		
8	0.130	0.399	0.706	1.108	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355		
9	0.129	0.398	0.703	1.100	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250		
10	0.129	0.397	0.700	1.093	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169		
11	0.129	0.396	0.697	1.088	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106		
12	0.128	0.395	0.695	1.083	1.356	1.782	2.179	2.681	3.055		
13	0.128	0.394	0.694	1.079	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012		
14	0.128	0.393	0.692	1.076	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977		
15	0.128	0.393	0.691	1.074	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947		
16	0.128	0.392	0.690	1.071	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921		
17	0.128	0.392	0.689	1.069	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898		
18	0.127	0.392	0.688	1.067	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878		
19	0.127	0.391	0.688	1.066	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861		
20	0.127	0.391	0.687	1.064	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845		
21	0.127	0.391	0.686	1.063	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831		
22	0.127	0.390	0.686	1.061	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819		
23	0.127	0.390	0.685	1.060	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807		
24	0.127	0.390	0.685	1.059	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797		
25	0.127	0.390	0.684	1.058	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787		
26	0.127	0.390	0.684	1.058	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779		
27	0.127	0.389	0.684	1.057	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771		
28	0.127	0.389	0.683	1.056	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763		
29	0.127	0.389	0.683	1.055	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756		
30	0.127	0.389	0.683	1.055	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750		
40	0.126	0.388	0.681	1.050	1.303	1.684	2.021	2.423	2.704		
60	0.126	0.387	0.679	1.045	1.296	1.671	2.000	2.390	2.660		
120	0.126	0.386	0.677	1.041	1.289	1.658	1.980	2.358	2.617		
∞	0.126	0.385	0.674	1.036	1.282	1.645	1.960	2.326	2.576		

Figura H. Tabla de distribución T student

Anexo J

CDU: 663.5



AL 04.02-311

Norma Ecuatoriana Voluntaria	BEBIDAS ALCOHOLICAS ENSAYO DE CATADO	INEN 350 1978-03
<p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN, Cveilla 17-01-39199 - Baquerizo Moreno Es-29 y A Inaigo - Prohibida la reproducción</p>		
<p style="text-align: center;">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma tiene por objeto establecer el método para efectuar el catado de bebidas alcohólicas.</p> <p style="text-align: center;">2. TERMINOLOGIA</p> <p>2.1 <i>Catar</i>. Es la operación mediante la que, utilizando los sentidos, se determinan las características organolépticas: aspecto, color, olor y sabor.</p> <p style="text-align: center;">3. DISPOSICIONES GENERALES</p> <p>3.1 El ensayo debe efectuarse siempre con un mismo tipo de copa.</p> <p>3.2 Es preferible realizar el ensayo de catado durante la mañana, procurando hacerlo siempre a la misma hora.</p> <p>3.3 El catador no debe fumar ni ingerir alimentos o bebidas (excepto agua destilada) durante el tiempo que se realiza la operación, quedando a su criterio y experiencia determinar el tiempo que debe transcurrir desde la última ingestión de alimentos o bebidas hasta el inicio del ensayo de catado.</p> <p>3.4 Las manos del catador deben estar perfectamente limpias y exentas de olores, a fin de evitar confusiones en la operación.</p> <p>3.5 No debe efectuarse el ensayo si el catador tiene las vías respiratorias o la cavidad bucal afectadas, si se encuentra cansado o si tienen alterado su sistema nervioso.</p> <p>3.6 El lugar en que se realiza el ensayo debe ser tranquilo, confortable y exento de olores y contaminantes que puedan influir en la operación de catado.</p> <p style="text-align: center;">4. INSTRUMENTAL</p> <p>4.1 <i>Copa</i>, apropiada para efectuar el ensayo; debe ser de vidrio incoloro, transparente y fino. Sus dimensiones serán las indicadas en la figura A.1 o tan similares como sea posible.</p> <p>4.2 <i>Vidrio de reloj</i>, de aproximadamente 60 mm de diámetro.</p> <p style="text-align: center;">5. REACTIVOS</p> <p>5.1 <i>Agua destilada, incolora, inodora e insípida.</i></p>		

-1-

1977-00076

Figura J.1. Norma INEN 350 para el ensayo de catado

6. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

6.1 La muestra debe ser preparada e identificada por una persona que no sea la que va a realizar el ensayo de catado.

6.2 Los vinos y otras bebidas alcohólicas cuyo grado alcohólico sea inferior a 50° GL deben someterse al ensayo sin dilución previa.

6.3 Las bebidas alcohólicas cuyo grado alcohólico sea superior a 50°GL deben diluirse hasta aproximadamente 35° GL antes de realizar el ensayo.

6.4 Colocar en la copa un volumen de muestra aproximadamente igual a la tercera parte de su capacidad, observando siempre las indicaciones del catador a este respecto; luego, tapar con el vidrio de reloj.

6.5 Dejar la copa tapada en reposo durante 30 min antes de iniciar el ensayo de catado, procurando que la temperatura del medio permanezca constante en valores comprendidos entre 15° C y 25°C, según el tipo de bebida alcohólica.

7. PROCEDIMIENTO

7.1 Aspecto.

7.1.1 Observar la porción de muestra contenida en la copa, a fin de determinar la transparencia del producto.

7.2 Color.

7.2.1 Observar la porción de muestra contenida en la copa, a fin de determinar el color del producto y, si se dispone de una muestra patrón o tipo, establecer la comparación correspondiente.

7.3 Olor.

7.3.1 Mover la copa suavemente y en forma circular para facilitar la captación del olor, evitando la fatiga del olfato.

7.3.2 Dejar transcurrir por lo menos cinco segundos entre dos pruebas, aspirando aire profundamente en el intervalo.

7.4 Sabor.

7.4.1 Sostener la copa, colocando la palma de la mano en el lugar de unión del cuello con el cuerpo de la copa, durante cinco minutos antes de proceder a la prueba.

7.4.2 Probar con sorbos de igual volumen cada vez (aproximadamente de 4 a 5 cm³), no debiendo permanecer la bebida más de cinco segundos en la boca y prefiriendo no ingerir, para evitar falsas percepciones.

(Continúa)

Figura J.2. Norma INEN 350 para el ensayo de catado

7.4.3 El catador debe centrar su atención cada vez en una propiedad particular (suavidad, acidez, amargor, dulzor, etc.).

7.4.4 Después de cada prueba debe enjuagar la boca con agua destilada tibia.

8. INFORME DE RESULTADOS

8.1 El informe del catador debe ser lo más claro posible, evitando expresiones ambiguas o confusas.

8.2 Una vez emitido el informe de resultados no debe repetirse el ensayo, a menos que el catador presente una razón legítima y de importancia que justifique una nueva realización del ensayo sobre la misma muestra.

8.3 Debe incluirse cualquier condición no especificada en esta norma, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre los resultados.

8.4 Deben indicarse todos los detalles para la completa identificación de la muestra.

(Continúa)

Figura J.3. Norma INEN 350 para el ensayo de catado

ANEXO K

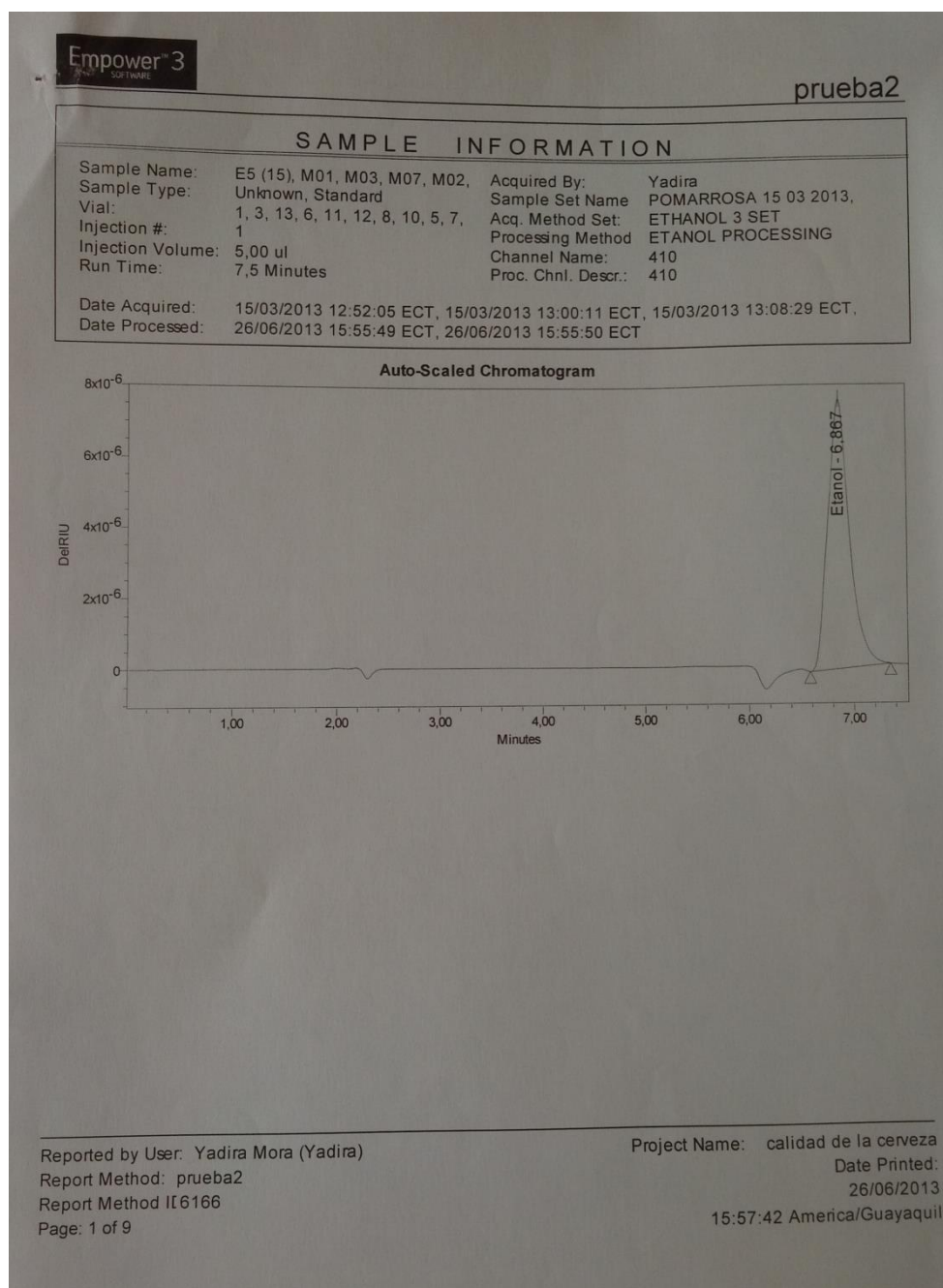


Figura K.1. Cromatograma obtenido del monitoreo de Etanol en el HPLC.

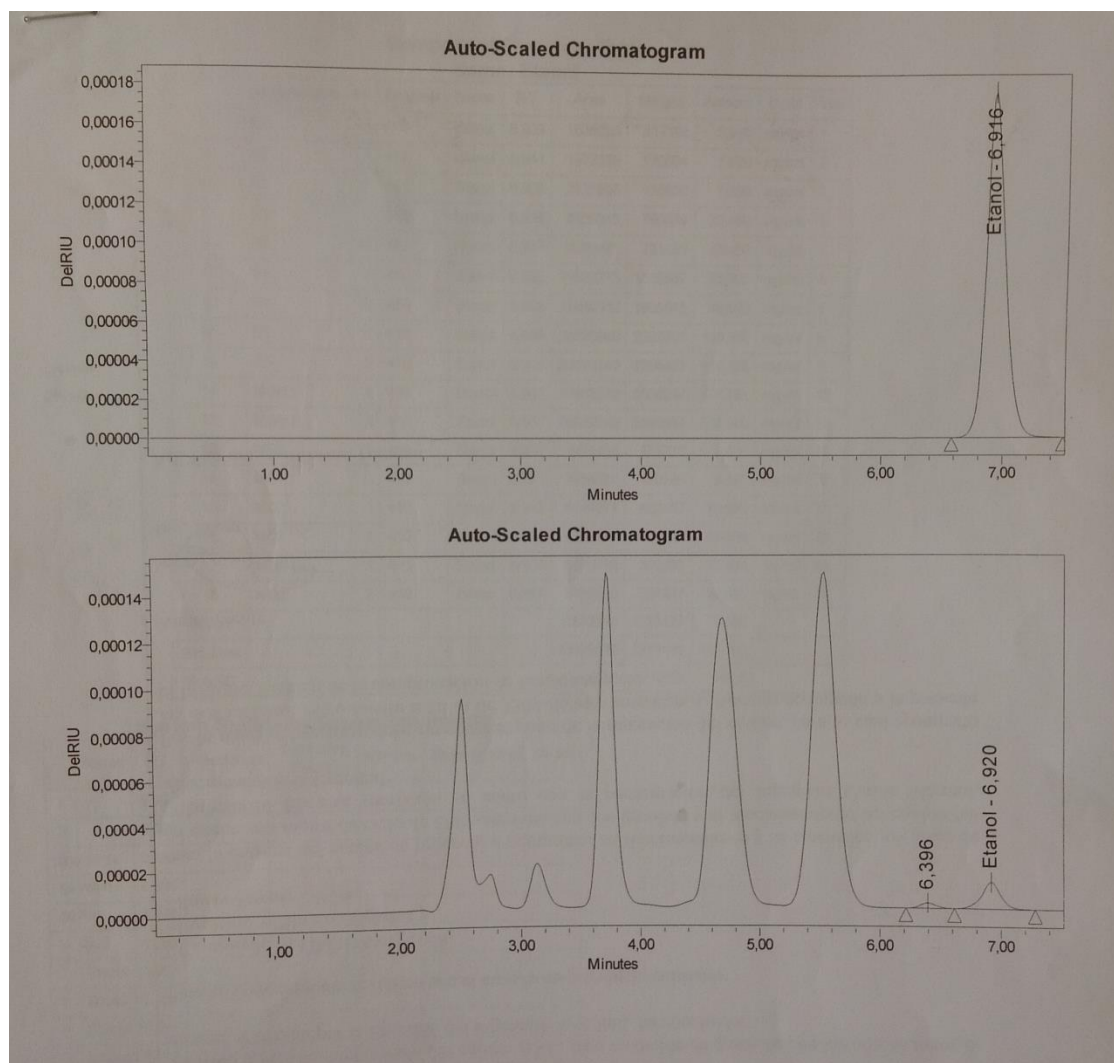


Figura K.2. Cromatogramas de estándar y muestra obtenidos del monitoreo de Etanol en el HPLC.